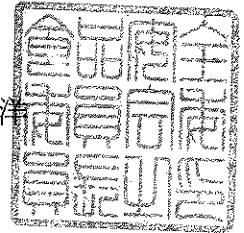




府食第156号
平成31年3月19日

農林水産大臣
吉川 貴盛 殿

食品安全委員会
委員長 佐藤 洋



食品健康影響評価の結果の通知について

平成30年10月17日付け30消安第3039号をもって農林水産大臣から当委員会に意見を求められた2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニン銅に係る食品健康影響評価の結果は下記のとおりですので、食品安全基本法（平成15年法律第48号）第23条第2項の規定に基づき通知します。

なお、食品健康影響評価の詳細は別添のとおりです。

記

2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニン銅が、飼料添加物として適切に使用される限りにおいて、食品を通じてヒトの健康に影響を与える可能性は無視できる程度と考えられる。

別添

飼料添加物評価書

2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニン
銅

2019年3月

食品安全委員会

目 次

	頁
○ 審議の経緯	3
○ 食品安全委員会委員名簿.....	3
○ 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿.....	3
○ 要約.....	5
I. 評価対象飼料添加物の概要	6
1. 原体	6
(1) 一般名	6
(2) 化学名	6
(3) 分子量	6
(4) 構造式	6
2. 製剤	6
3. 用途	6
4. 対象飼料及び添加量	6
5. 使用目的及び使用状況.....	7
II. 安全性に係る知見の概要.....	9
1. ヒトに対する安全性	9
(1) HMTBa	9
(2) 銅.....	9
2. 体内動態試験	11
(1) 消化・吸収に関する知見.....	11
(2) 吸収・消化に関する試験（豚）	12
(3) 体内動態試験（牛）	12
(4) 体内動態試験（鶏）①	13
(5) 体内動態試験（鶏）②	14
3. 残留試験	15
(1) 残留試験（牛①）	15
(2) 残留試験（牛②）	16
(2) 残留試験（豚①）	17
(3) 残留試験（豚②）	18
(4) 残留試験（豚③）	19
(5) 残留試験（鶏①）	20
(6) 残留試験（鶏②）	21
(7) 残留試験（鶏③）	23
(8) 残留試験（すずき）	23
(9) 残留試験（ばなめいえび）	24

4. 遺伝毒性試験	24
(1) Cu-(HMTBa) ₂ に関する遺伝毒性試験.....	24
(2) 銅化合物の遺伝毒性に関する知見.....	25
(3) HMTBa の遺伝毒性に関する知見	28
(4) Cu-(HMTBa) ₂ の遺伝毒性に関するまとめ.....	28
5. 急性毒性試験	28
6. 亜急性毒性試験	29
7. 慢性毒性及び発がん性試験.....	29
8. 生殖発生毒性試験	30
9. 対象動物における飼養試験.....	30
(1) 耐容試験.....	30
(2) 飼養試験.....	34
(3) 対象動物における銅の中毒について（参考資料）	34
10. その他	34
(1) 対象動物における腸内正常細菌叢に対する影響（参考資料）	34
Ⅲ. 国際機関等における評価.....	36
1. EFSA での評価	36
2. EFSA での細菌の薬剤耐性等に対する飼料添加物としての銅の影響に関する評価及び新しい基準値の設定（参考資料）	36
3. JECFA における銅に関する評価.....	37
4. JECFA 及び EFSA での飼料における HMTBa の評価.....	38
Ⅳ. 食品健康影響評価	39
・ 別紙：検査値等略称	40
・ 参照.....	42
・ 別添 1 清涼飲料水「銅」	
・ 別添 2 対象外物質「メチオニン」（第3版）	

＜審議の経緯＞

- 2018年10月17日 農林水産大臣から飼料添加物の指定並びに飼料添加物の基準及び規格の設定に係る食品健康影響評価について要請（30消安第3039号）、関係資料の接受
- 2018年10月23日 第717回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2018年11月2日 第139回肥料・飼料等専門調査会
- 2018年12月21日 第140回肥料・飼料等専門調査会
- 2019年1月29日 第728回食品安全委員会（報告）
- 2019年1月30日から2月28日まで 国民からの意見・情報の募集
- 2019年3月13日 肥料・飼料等専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
- 2019年3月19日 第735回食品安全委員会（報告）
同日付で食品安全委員会委員長から農林水産大臣へ通知

＜食品安全委員会委員名簿＞

（2018年7月1日から）

佐藤 洋 （委員長*）
山本 茂貴 （委員長代理*）
川西 徹
吉田 緑
香西 みどり
堀口 逸子
吉田 充

*：2018年7月2日から

＜食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿＞

（2017年10月1日から）

今井 俊夫（座長*）
山中 典子（座長代理*）
新井 鐘蔵 下位 香代子
荒川 宜親 菅井 基行
今田 千秋 高橋 和彦
植田 富貴子 中山 裕之
川本 恵子 宮島 敦子
桑形 麻樹子 山田 雅巳
小林 健一 吉田 敏則
佐々木 一昭

*：2017年10月25日から

〈第 138 回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

唐木 英明（公益財団法人食の安全・安心財団理事長）

〈第 139 回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

唐木 英明（公益財団法人食の安全・安心財団理事長）

要 約

飼料添加物である 2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニン銅 (CAS No. 292140-30-8) について、飼料添加物の指定審査用資料等を用いて、食品健康影響評価を実施した。

飼料添加物である 2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニン銅 ($\text{Cu}-(\text{HMTBa})_2$) は、日本では、一日摂取許容量は設定されていない。

$\text{Cu}-(\text{HMTBa})_2$ は、HMTBa 及び銅がキレート結合したものであり、動物の消化管内では、HMTBa 及び銅がそれぞれ吸収され、生体内で利用されると考えられる。

食品安全委員会は、動物に投与された HMTBa について「食品を通じて動物用医薬品及び飼料添加物由来のメチオニンを人が過剰に摂取することはないと考えた」と評価している。また、清涼飲料水中の成分としての銅について、耐用上限摂取量 (UL) を 9 mgCu/人/日と設定している。

$\text{Cu}-(\text{HMTBa})_2$ を飼料添加物として対象動物に混餌投与した試験では、無機態銅を投与した場合と比較したところ、肝臓において銅の濃度が高い傾向がみられたが、筋肉を含む他の組織中の蓄積濃度に大きな差は認められず、飼料添加物として適切に使用される場合の残留濃度が、日本で指定されている銅を含有する飼料添加物と比較して、大きく異なる可能性は低いと考えた。

遺伝毒性試験では、銅について、染色体異常誘発性を有するが、遺伝子突然変異誘発性はないと考えた。銅の遺伝毒性については、過負荷の条件下における場合を除いて予見されておらず、通常のヒトの経口摂取の範囲においては一般的に遺伝毒性があるとは考えられていないことから、HMTBa の遺伝毒性に関する知見も踏まえ、 $\text{Cu}-(\text{HMTBa})_2$ が飼料として適切に使用される場合において、食品を介して、ヒトに対して、特段問題となる遺伝毒性は生じないと考えた。

亜急性毒性試験、慢性毒性試験及び発がん性試験並びに生殖発生毒性試験は実施されていないが、対象動物を用いた飼養試験において毒性影響はみられなかった。

したがって、従来から日本で指定されている銅を含有する飼料添加物と比較して、食品を介したヒトへの毒性影響が大きく異なる可能性は低いと考えた。

以上のことから、 $\text{Cu}-(\text{HMTBa})_2$ が飼料添加物として適切に使用される限りにおいては、食品を通じてヒトの健康に影響を与える可能性は無視できる程度と考えた。

I. 評価対象飼料添加物の概要

1. 原体

(1) 一般名

2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニン銅

(2) 化学名

銅ビス(2-ヒドロキシ-4-メチルチオ酪酸)

IUPAC

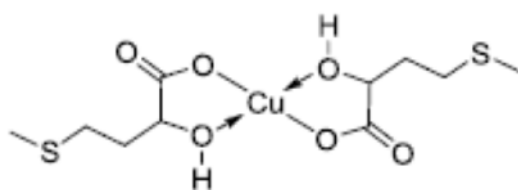
英名 : Copper bis(2-hydroxy-4-methylthio butyrate) (参照1)

CAS (No. 292140-30-8) (参照2)

(3) 分子量

361.9 (参照 1)

(4) 構造式



(参照 1)

2. 製剤

本飼料添加物は、原体をそのまま製剤としたものである。(参照 1)

3. 用途

飼料の栄養成分その他の有効成分の補給である。

4. 対象飼料及び添加量

評価要請者によると、本飼料添加物の飼料 1 kg への銅としての推奨添加量及び上限添加量は表 1 のとおりである。(参照 1)

なお、本評価書において、銅化合物の重量から換算した銅元素としての重量を、元素記号を用いて mgCu 等と表記した。また、亜鉛、マンガン等の元素当たりの重量についても、同様に元素記号を用いて表記した。

表1 2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニン銅の推奨添加量及び上限添加量
(飼料 1 kg 当たりの添加量 (mgCu))

対象飼料	添加量	
	推奨添加量	上限添加量
牛 ¹	5~10	35
牛 (代用乳及び子牛用)	5~10	15
めん羊	—	15
山羊	—	—
豚	10	170
家きん	10	25
魚類	3~6	25
甲殻類	15~25	50

5. 使用目的及び使用状況

2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニン銅 ($\text{Cu}-(\text{HMTBa})_2$) は、飼料中の銅の補給を目的にノーバス社が開発した、有機態銅を成分とする飼料添加物である。本飼料添加物は、メチオニンの水酸化体である 2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニン (2-ヒドロキシ-4-メチルチオ酪酸 : HMTBa) 2 分子及び銅 1 分子から構成されるキレート化合物である。一般に、有機態銅は、無機態銅と比較して生体利用率が高いと考えられている。本飼料添加物の銅含有量は 15%以上である。(参照 1)

日本では、銅を含有する飼料添加物としてペプチド銅及び硫酸銅 (乾燥及び結晶) が指定されている。(参照 3)

なお、日本では飼料中の銅濃度について、その添加量の上限は定められていない。(参照 3) しかしながら、農林水産省は、銅の添加濃度が高い豚について、土壌環境に悪影響が生ずることを防止する観点から、飼料の製造に当たっては、銅又は亜鉛等を含む飼料添加物を過剰に添加することのないように関係団体に求め、関係団体は、養豚用飼料について銅の添加限量の自主規制値として各育成ステージ別に 10~125 ppm (銅として) を設定している。(参照 4、5)

また、羊は銅に対して感受性が高いことから、牛用の飼料を用いる場合の留意点として、銅濃度が低いものを使用することが通知されている。(参照 6)

メチオニン関連の飼料添加物としては、HMTBa 及び DL-メチオニンが指定されている。(参照 3)

本飼料添加物は、海外では、米国、EU 等の十数か国・地域において販売されている。(参照 1)

国内外において、 $\text{Cu}-(\text{HMTBa})_2$ は医療用医薬品又は食品添加物として使用

1 本評価書において、原則として実験動物種及び人はカタカナ、飼料添加物の使用対象となる動物等は漢字又はひらがなで記載する

されていない。

なお、日本では、2018年2月に、食品安全委員会が、HMTBaの亜鉛キレート化合物である2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニン亜鉛（Zn-(HMTBa)₂）を飼料添加物として使用することについて、「飼料添加物として適切に使用される限りにおいては、食品を通じてヒトの健康に影響を与える可能性は無視できる程度と考える」と評価している。（参照7）

今般、農林水産省から、Cu-(HMTBa)₂について、飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律（昭和28年法律第35号）第2条第3項の規定に基づく飼料添加物としての指定並びに同法第3条第1項の記載に基づく飼料添加物の基準及び規格を設定することについて、食品健康影響評価の要請がなされた。

II. 安全性に係る知見の概要

本評価書は、Cu-(HMTBa)₂に関する飼料添加物指定審査用資料、清涼飲料水評価書「銅」等を基に、Cu-(HMTBa)₂の毒性に関する主な知見を整理した。

検査値等略称を別紙に示した。

1. ヒトに対する安全性

家畜での Cu-(HMTBa)₂の吸収は、2の(1)のとおり、経口投与された後、HMTBa 及び銅としてそれぞれ消化管から吸収され、HMTBa はメチオニンに代謝された後にタンパク質の構成成分等として、銅は骨の形成や種々の酵素等の成分としてそれぞれ生体内で利用されると考えられる。

したがって、Cu-(HMTBa)₂が飼料添加物として使用され、畜産物及び水産物を介したヒトへの健康影響について検討する場合は、Zn-(HMTBa)₂と同様、主として HMTBa 及び金属部分である銅が検討対象となる。

なお、評価要請者によると、対象動物への Cu-(HMTBa)₂の添加濃度は動物種によって異なり、牛、豚及び家きんでの推奨添加濃度は 10 mgCu/kg 飼料、豚における上限濃度は 170 mgCu/kg 飼料とされている（表 1）。

(1) HMTBa

本物質は、飼料添加物としての使用が認められており、2019年に食品安全委員会は、別添の対象外物質「メチオニン」の飼料添加物の一剤型として、動物に投与された HMTBa について「細胞内タンパク質の連続的な代謝に利用され、メチオニンが過剰になったとしても、動物体内で代謝され、蓄積されることはないことから、食品を通じて動物用医薬品及び飼料添加物由来のメチオニンを人が過剰に摂取することはないと考えた」と評価している。また、対象外物質であるメチオニンについては、「飼料添加物として通常使用される限りにおいて、食品に残留することによりヒトの健康を損なうおそれのないことは明らかである」と評価している。（別添 2）

なお、本物質を構成成分とする Zn-(HMTBa)₂については、食品安全委員会は、「2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニン亜鉛が飼料添加物として適切に使用される限りにおいては、食品を通じてヒトの健康に影響を与える可能性は無視できる程度」と評価している。（参照 7）

(2) 銅

銅は、ヒトを含め動物の全ての組織に存在する必須元素であり、生体において造血、骨代謝、呼吸代謝等に関わっている。そのため、生体の正常な活動に重要な役割を果たすと考えられる。一方、細胞内の過剰な銅は毒性を示すため、体内の銅の恒常性の維持は、吸収量と排泄量の調整によって厳密に行われている。（参照 1、8）

家畜は飼料（飼料添加物を含む）、飲水等から銅を摂取している。ヒトの

食品からの摂取量は 1.11 mgCu/人/日とされており、その内訳は動物性食品から 0.18 mgCu/人/日、植物由来食品から 0.93 mgCu/人/日とされている。(参照9)

銅を含有する食品によるヒトでの有害作用の事例について、2004年に食品安全委員会は、添加物におけるグルコン酸銅の評価において、次のとおり記載している。(参照10)

成人で銅を摂取した際の有害作用の報告が見当たらないことから、銅について最低有害作用発現量 (LOAEL) は確立されていない。

仮に、銅を多量摂取しても、上腹部痛や吐き気、嘔吐、下痢などの有害作用により、多量の銅吸収は生じにくいとされている。インドにおいて、銅が溶出したミルクを長期間にわたり飲用した子どもたちが、肝硬変を発症した事例が報告されているが、このときの銅の摂取量は 0.9 mg/kg/日と報告されており、JECFA の暫定 MTDI (0.05 ~ 0.5 mg/kg) を上回っている。

なお、このインドにおける事例 (インド小児肝硬変 : Indian childhood cirrhosis (ICC) ²⁾) については、近年、銅の過剰摂取が直接的な原因ではないとする報告もみられる。(参照11、12)

また、銅の食品健康影響については、2008年に清涼飲料水評価書「銅」において、添加物評価書「グルコン酸銅」を引用し、次のとおりまとめている。(別添1)

グルコン酸銅については、銅としての摂取を評価することが適当であり、また、銅はヒトにとって必須元素であることを踏まえ、銅の UL について評価を行った。

成人で銅を摂取した際の副作用の報告が見当たらないことから、銅について LOAEL は確立されていない。

ヒトに 1日 10 mg のグルコン酸銅を 12週間投与した結果、影響は認められていない。米国医学学会 (IOM) 及び EU もこの値を NOAEL と評価している。

JECFA は、1982年にイヌの 1年間反復投与試験における NOEL を約 5 mg/kg/日とし、これに基づき、暫定 MTDI を 0.05 ~ 0.5 mg/kg と評価している。

これまでの我が国の UL は 9 mg/ヒト/日と設定されているが、この値は、ヒト 12週間投与試験の NOAEL 10 mg/ヒト/日 よりも小さい値であり、今回入手した情報からは、これを変更する必要はないと考えられる

2 インド小児肝硬変 (Indian childhood cirrhosis : ICC) とは、インドにおいて 1~3 歳児に、肝硬変を主徴とし肝臓に高度な銅の蓄積等がみられる疾病。1980年代以降、患者数は急減している。本病の原因については、ミルク中に銅製調理器具から溶出した銅による慢性中毒、遺伝的感受性等これまで多くの議論がされてきたが結論には至っていない。(参照 11、12)

ことから、グルコン酸銅の UL は銅として 9 mg/ヒト/日と評価した。

上記の評価を踏まえ、グルコン酸銅の UL を銅として 9 mg/ヒト/日とした評価結果は妥当であると判断する。この UL 値は、「第六次改定日本人の栄養所要量」の食事摂取基準による銅の許容上限摂取量を踏まえた結果である。その後、食事摂取基準は、「日本人の食事摂取基準 2005 年版」に改定され、UL 値は 10 mg/ヒト/日に変更されたが、本評価では、より安全性の高い値を保持する観点から、清涼飲料水における銅の許容上限摂取量は 9 mg/ヒト（成人）/日と設定するのが妥当と判断する。

なお、子供については、銅は成人と同様に必須ミネラルであり、銅欠乏が生じないために目安量や推奨量が定められているが、過剰摂取にならないように注意することが重要である。

食品安全委員会では、これまで銅が飼料添加物として使用された場合のヒトの食品健康影響については評価していないが、上記のとおり、グルコン酸銅及び清涼飲料水の銅の食品健康影響評価において銅の UL を 9 mgCu/人/日としている。

2. 体内動態試験

本飼料添加物を家畜に混餌投与した後の体内動態に関する知見を整理した。

(1) 消化・吸収に関する知見

Cu-(HMTBa)₂ の腸粘膜上皮での吸収の機序については完全には解明されていないとされている（参照13）一方で、これまでに以下の関連する知見が得られている。

銅、亜鉛及びマンガンの有機態（HMTBa とのキレート体）又は無機態（硫酸塩）の消化・吸収を *in vivo* で比較した試験が 2. の（3）のとおり実施され、フィチン酸含有量が多い飼料では、有機態は無機態と比較して有意に吸収率及び保持率が高いとする結果が得られている。（参照14）

有機態が無機態よりも吸収率が良い理由としては、無機態は胃で解離した各金属イオンが、飼料中のフィチン酸、食物繊維等と結合し不溶化する一方で、有機態はイオン化しにくく、フィチン酸、食物繊維等との相互作用を比較的受けず小腸まで可溶性のまま到達する割合が高いためであると考えられている。（参照 14、15）

胃の酸性条件における HMTBa 金属キレート体への影響については、Zn-(HMTBa)₂ を用いた *in vitro* の試験が実施されており、Zn-(HMTBa)₂ は酸性条件下で亜鉛イオンと HMTBa に一定程度解離するものの、その割合は無機態と比較して低いとする結果が得られている。（参照16）したがって、銅についても、亜鉛と同様、胃の酸性条件下で Cu-(HMTBa)₂ は銅イオンと HMTBa に一定程度解離するものの、その割合は無機態と比較して低いと考えられる。

また、胃を通過した後の動態については、鶏を用いた $\text{Zn}-(\text{HMTBa})_2$ に由来するメチオニンのタンパク質への取込み、代謝等に関する試験の結果から、腸管に到達した銅イオン、 HMTBa 又は $\text{Cu}-(\text{HMTBa})_2$ は、銅と HMTBa としてそれぞれ別々に体内に吸収され、銅及びメチオニン源としてそれぞれ利用されると考えられている。(参照 1、13、15、17)

(2) 吸収・消化に関する試験 (豚)

離乳豚 (雄 (去勢)、8 頭/群) にトウモロコシ飼料又はトウモロコシ飼料にフィチン酸を多く含む大豆ミールを添加した飼料に、有機態の銅、亜鉛又はマンガン源として HMTBa とのキレート体 (50 mgCu/kg 飼料、40 mgZn/kg 飼料又は 20 mgMn/kg 飼料) 又は無機態として各硫酸塩 (飼料中添加濃度として、50 mgCu/kg 飼料、40 mgZn/kg 飼料又は 20 mgMn/kg 飼料としたもの。) を添加した飼料を 12 日間混餌投与し、投与開始 6 から 11 日後に採取した糞及び尿中の各金属濃度について、誘導結合プラズマ発光分光分析装置 (ICP-OES) を用いて測定した。

各測定値に基づき算出した各金属の吸収率、見かけの総消化管消化率及び体内保持率について、有機態又は無機態の銅、亜鉛若しくはマンガン添加飼料添加群間で比較した結果、フィチン酸含量の多い大豆ミール添加飼料を給餌した場合、有機態の各金属を添加した群は、無機態の各金属を投与した群と比較し、亜鉛では見かけの総消化管消化率が、銅及びマンガンでは見かけの総消化管消化率及び体内保持率が、それぞれ有意に高値であった。(参照 14)

(3) 体内動態試験 (牛)

牛 (ホルスタイン種、10 頭/群) を用いた体内動態試験を実施した。

本試験では、馴致期間 (20 日) 後に、基礎飼料 (9.78 mgCu/kg 飼料) に硫酸銅のみを添加する群 (無機態銅群)、 $\text{Cu}-(\text{HMTBa})_2$ のみを添加する群 ($\text{Cu}-(\text{HMTBa})_2$ 群) 並びに硫酸銅及び $\text{Cu}-(\text{HMTBa})_2$ を等量添加する群 (混合群) を設け、各群 12 mgCu/kg 飼料 (0.4 mgCu/kg 体重/日に相当) を 100 日間混餌投与した。

血液試料について、黒鉛炉原子吸光光度分析法を用いて銅濃度を測定した。

結果を表 2 に示した。

血清中銅濃度は、混合群が無機態銅群と比較して有意に高濃度であった。

なお、血清中 Cu-Zn SOD 活性について市販キットを用いて測定した結果、群間に有意差はみられなかった。(参照 1、18)

表 2 乳用牛を用いた Cu-(HMTBa)₂ の 100 日間混餌投与試験における血清中銅濃度(mmol/L)及び Cu-Zn SOD 活性(U/L)

	無機態銅群	Cu-(HMTBa) ₂ 群	混合群
銅濃度(mmol/L)	0.01411	0.01668	0.01729 ^a
Cu-Zn SOD 活性(U/L)	101	114	113

a : 無機態群に対して有意 (p<0.01) に高い

(4) 体内動態試験 (鶏) ①

鶏 (肉用種、1 日齢、雄、56 羽/群 (7 羽×8 区画)) を用いた体内動態試験を実施した。本試験では、表 3 に示したとおり、基礎飼料 (8 mgCu/kg 飼料) に硫酸銅を 10 mgCu/kg 添加した群 (無機態銅群)、基礎飼料に Cu-(HMTBa)₂ を 10 mgCu/kg 添加した群 (Cu-(HMTBa)₂ 群) 及び無機態銅群の硫酸銅の半分を Cu-(HMTBa)₂ に置き換えた群 (混合群) を設け、それぞれ 1 から 42 日齢まで混餌投与した。21 及び 42 日齢に各 8 羽から血液及び組織 (肝臓、脾臓及び末節骨) を採取し、銅濃度を測定するとともに、42 日齢の肝臓 Cu-Zn SOD 活性を測定した。

結果を表 4 に示した。

混合群では、21 日齢の血清中銅濃度が高かった (p=0.05)。また、混合群では 42 日齢の趾骨及び脛骨において有意に銅濃度が高かった (p<0.05)。(参照 1、19)

表 3 被験飼料中の添加銅濃度 (mgCu/kg 飼料)

添加物質	無機態銅群	Cu-(HMTBa) ₂ 群	混合群
硫酸銅	0	10	5
Cu-(HMTBa) ₂	10	0	5

注：添加前の基礎飼料には平均 8 mgCu/kg 飼料が含有されている。

表 4 鶏を用いた Cu-(HMTBa)₂ の 42 日間混餌投与試験における血清銅濃度 (mgCu/L) 及び組織中銅濃度 (mgCu/kg) 並びに肝臓 Cu-Zn SOD 活性 (U/mg タンパク質)

日 齢	試料	無機態銅群	Cu-(HMTBa) ₂ 群	混合群
21 日	血清 (mgCu/L)	0.49 ^a	0.51 ^{ab}	0.54 ^b
	肝臓	3.57	4.15	3.91
	脾臓	1.54	1.56	1.70
42 日	血清 (mgCu/L)	0.51	0.51	0.52
	肝臓	3.51	3.19	3.59
	脾臓	1.37	1.27	1.46
	趾骨	15.87 ^c	14.15 ^c	18.87 ^d
	脛骨	6.56 ^c	6.44 ^c	8.06 ^d
	肝臓 Cu-Zn SOD (U/mg タンパク 質)	201.05	203.29	224.27

n=8

a, b : 同行内において、同じアルファベットを含まない場合は p=0.05 で高い。

c, d : 同行内において、同じアルファベットを含む場合は有意差なし、同じアルファベットを含まない場合は有意差あり (p<0.05)。

(5) 体内動態試験 (鶏) ②

鶏 (産卵鶏、37 週齢、54 羽/群 (9 羽×6 区画)) に Cu-(HMTBa)₂ を 9 週間混餌投与する体内動態試験を実施した。

投与群及び対照群 (硫酸銅) における飼料 1 kg 当たりの銅添加量を表 5 に示した。

試験開始 4 及び 9 週に各群 6 羽から血液及び組織を採取し、また、各群から鶏卵 300 個を採取し、銅濃度について原子吸光分光法を用いて測定した。

結果を表 6 に示した。

投与 4 週間後の卵黄中及び投与 9 週後の肝臓中の銅濃度が対照群と比較して有意に高値であった (4 週間後卵黄 : p<0.01、9 週間後肝臓 : p<0.05)。他の検査組織及び血清中の銅濃度は対照群との間に有意な変動はみられなかった。

なお、9 週間投与後の肝臓中 Cu-Zn SOD 活性について、市販キットを用いて測定した結果、有意差はみられなかった。(参照 1、20)

表 5 被験飼料中の添加銅濃度 (mgCu/kg 飼料)

投与物質	Cu-(HMTBa) ₂ 群	対照群
硫酸銅	0	10
Cu-(HMTBa) ₂	10	0

注：添加前の飼料には平均 6.5 mgCu/kg 飼料が含有されている。

表 6 鶏を用いた Cu-(HMTBa)₂ の 9 週間給餌投与試験における血清中銅濃度 (μgCu/L) 及び組織中銅濃度 (mgCu/kg) 並びに肝臓 Cu-Zn SOD 活性 (U/mg タンパク質)

投与開始後週数 (週)	試料	Cu-(HMTBa) ₂ 群	対照群
4	血清 (μgCu/L)	512 ± 36.9	519.9 ± 44.7
	肝臓	3.43 ± 1.89	2.83 ± 0.61
	脾臓	1.64 ± 0.25	1.51 ± 0.17
	膵臓	3.90 ± 1.46	3.44 ± 1.11
	趾骨	48.2 ± 11.2	49.8 ± 7.2
	卵黄	2.41 ± 0.26 ^a	1.89 ± 0.16
9	血清 (μgCu/L)	549.5 ± 33.5	543.9 ± 17.2
	肝臓	12.02 ± 2.78 ^b	8.27 ± 2.11
	脾臓	2.46 ± 0.47	2.41 ± 0.41
	膵臓	6.35 ± 2.87	3.83 ± 1.64
	趾骨	76.4 ± 18.3	65.9 ± 19.4
	卵黄	2.32 ± 0.12	2.46 ± 0.47
	肝臓 Cu-Zn SOD (U/mg タンパク質)	173.2 ± 17.6	186.3 ± 32.8

n=6 測定値：平均値 ± SD

a：対照群との間に有意差(p<0.01)

b：対照群との間に有意差(p<0.05)

3. 残留試験

(1) 残留試験 (牛①)

牛 (ホルスタイン種、10 頭/群) に硫酸銅又は Cu-(HMTBa)₂ を 60 日間混餌投与する残留試験が実施された。

本試験における銅の添加濃度を表 7 に示した。

なお、各添加ミネラル (銅、亜鉛及びマンガン) は濃縮飼料として 2 kg/日で投与し、基礎飼料は 19 kg/日で給餌した。

投与による乳汁中銅濃度の推移を表 8 に示した。

乳汁中銅濃度は、投与日数の違いによって有意に上昇したが、各添加ミネラルが有機態か無機態かの違いでは投与による有意差はみられなかった。(参照 1、2、21)

表 7 被験飼料中の添加ミネラルの種類及び濃度

群	銅 (mgCu/kg)		亜鉛 (mgZn/kg)		マンガン (mgMn/kg)	
	無機態	Cu- (HMTBa) ₂	無機態	Zn- (HMTBa) ₂	無機態	Mn- (HMTBa) ₂
無機態ミネラル群	35	—	150	—	150	—
Cu-(HMTBa) ₂ 群	—	35	150	—	150	—
Zn-(HMTBa) ₂ 群	35	—	—	150	150	—
Mn-(HMTBa) ₂ 群	35	—	150	—	—	150

基礎飼料を 19 kg/日 (4 mgCu/kg 飼料) とし、各ミネラルを含む濃縮飼料を 2 kg/日で投与した。

表 8 牛を用いた Cu-(HMTBa)₂ の 60 日間混餌投与試験における乳汁中銅濃度 (µgCu/kg)

投与日数	群			
	無機態ミネラル群	Cu-(HMTBa) ₂ 群	Zn-(HMTBa) ₂ 群	Mn-(HMTBa) ₂ 群
0 日	26.5	30.1	26.1	29.3
30 日	40.5	40.1	35.4	36.7
60 日	49.0	50.3	42.4	42.3

(2) 残留試験 (牛②)

牛 (乳用牛 (ホルスタイン種)、23 又は 24 頭/群) に Cu-(HMTBa)₂、Zn-(HMTBa)₂ 及び Mn-(HMTBa)₂ 混合飼料添加物を 103 日間混餌投与 (35 mgCu/kg 飼料) する残留試験が実施された。

本試験における銅投与濃度を表 9 に示した。

投与終了時の乳汁及び被毛中銅濃度を表 10 に示した。

投与群間に差はみられなかった。

なお、本試験は Cu-(HMTBa)₂、Zn-(HMTBa)₂ 及び Mn-(HMTBa)₂ を同時に投与した試験であったが、投与群間にこれらの投与に起因する有害作用はみられなかった。(参照 1、2、22)

表 9 被験飼料中の添加銅濃度及び分析値

群	飼料中銅濃度(mgCu/kg)	
	投与濃度	分析濃度
Cu-(HMTBa) ₂ 群 ^a	35	24
無機態銅群 ^b	35	24
対照群 ^c	13	9.0

n=23 (Cu-(HMTBa)₂ 群のみ n=24)

a: 無機態マンガン及び無機態亜鉛を 150 mgMn/kg 飼料及び 150 mgZn/kg 飼料となるように添加

b: 無機態マンガン及び無機態亜鉛を 150 mgMn/kg 飼料及び 150 mgZn/kg 飼料となるように添加

c: 無機態マンガン及び無機態亜鉛を 50 mgMn/kg 飼料及び 14 mgZn/kg となるように添加

表 10 乳用牛を用いた Cu-(HMTBa)₂ の 103 日間混餌投与試験における乳汁中銅濃度 (mgCu/L) 及び被毛中銅濃度 (mgCu/g)

群	乳汁 (mg/L)		被毛 (mg/g)	
	試験開始時	試験終了時	試験開始時	試験終了時
Cu-(HMTBa) ₂ 群	0.18 ^a	0.13	17.4	19.4
無機態銅群	0.16 ^{ab}	0.14	13.9	16.2
対照群	0.12 ^b	0.12	13.7	15.7

n=23 (対照群のみ n=22)

a, b : 同列内において、同じアルファベットを含む場合は有意差なし、同じアルファベットを含まない場合は有意差あり (p<0.05)。

(2) 残留試験 (豚①)

豚 (雌、21,454 頭) に Cu-(HMTBa)₂、Zn-(HMTBa)₂ 及び Mn-(HMTBa)₂ を混合した混合有機態ミネラルを離乳時から 4 産次まで混餌投与する残留試験が実施された (試験期間 : 3 年)。

混合有機態ミネラル添加群 (Cu-(HMTBa)₂、Zn-(HMTBa)₂ 及び Mn-(HMTBa)₂) では、飼料に添加する銅、亜鉛及びマンガンのうち 50% を無機態、50% を混合有機態とし、対照として無機態のみを添加する無機態添加群を設定した。各群の飼料 1 kg 当たりの銅、亜鉛及びマンガンとしての投与量を表 11 に示した。

投与開始後の未経産時及び経産時における肝臓及び脛骨を採材し、銅、亜鉛及びマンガンの濃度を測定した結果を表 12 に示した。

混合有機態ミネラル添加群では、未経産時の肝臓において銅濃度が有意に高いが、脛骨において有意差はみられなかった。(参照 23)

表 11 被験飼料中の添加ミネラル量 (mg)

群	飼料 1 kg 当たりの各無機成分としての投与量					
	(HMTBa) ₂			無機態		
	銅	亜鉛	マンガン	銅	亜鉛	マンガン
無機態 (亜鉛、マンガン及び銅) 添加群	0	0	0	16	165	38
混合有機態ミネラル添加群	8	82.5	19	8	82.5	19

表 12 豚を用いた Cu-(HMTBa)₂、Zn-(HMTBa)₂ 及び Mn-(HMTBa)₂ 混合有機態ミネラル添加物の混餌投与試験における肝臓及び脛骨中のミネラル濃度 (mg/kg)

群	測定	未經産 ^a		未經産+経産 ^b	
		肝臓	脛骨 ^c	肝臓	脛骨 ^c
無機態(亜鉛、マンガン及び銅)添加群	銅	10.90 ± 5.5	5.50 ± 0.26	57.17	-
	亜鉛	75.65 ± 5.2	136 ± 4.57	90.72	222.1
	マンガン	2.21 ± 0.08	0.50 ± 0.04	2.32	-
混合有機態ミネラル添加群(50%無機態+50%混合有機態ミネラル)	銅	23.8 ± 3.1 ^d	5.15 ± 0.21	59.57	-
	亜鉛	61.45 ± 2.9 ^d	128 ± 3.57	71.73	209.7
	マンガン	2.08 ± 0.04	0.56 ± 0.05	2.52	-

a : 1 群 n=25、2 群 n=40

b : 1 群 n=223、2 群 n=191

c : 脛骨中濃度は、灰分としての濃度

d : 1 群と比較して(同一ミネラルについて)有意差あり (p<0.05)

(3) 残留試験(豚②)

豚(交雑種(LY)の離乳子豚、雌雄 80 頭/群(雌雄各 5 頭×8 区画))に Cu-(HMTBa)₂ 又は硫酸銅を 42 日間混餌投与する残留試験が実施された。

各試験群の添加ミネラル(銅、亜鉛及びマンガン)濃度及び分析値を表 13 に示した。

試験終了時に各試験群から各 6 頭を抽出し、剖検を実施し、筋肉、肝臓、腎臓、皮膚、脂肪及び骨の銅濃度を ICP-OES によって測定した。

結果を表 14 に示した。

銅添加群は対照群と比較して有意に肝臓中の銅濃度が高かったが、Cu-(HMTBa)₂ 添加群と無機態銅添加群では有意差はみられなかった。また、筋肉等の他の組織では、どの群も銅濃度に有意差はみられなかった。(参照 24、25)

表 13 被験飼料中の添加ミネラル濃度及び分析値 (mg/kg 飼料)

群	添加ミネラル濃度			分析値		
	銅	亜鉛	マンガン	銅	亜鉛	マンガン
Cu-(HMTBa) ₂ 添加群	170	150 ^a	150 ^a	169/160	198/173	170/165
無機態銅添加群	170 ^a	150 ^a	150 ^a	149/145	195/180	159/162
対照群	6/5 ^a	100/80 ^a	4/3 ^a	15/11	194/119	34/39

全ての動物に基礎飼料として最初の 2 週間はプレスターター飼料を、残りの 4 週間はスターター³飼料を給餌した。飼料中のミネラルの分析値はプレスターター（餌付け初期）/スターター（餌付け後期）で示す。

a: 硫酸銅、硫酸マンガン又は硫酸亜鉛を添加

表 14 離乳豚を用いた Cu-(HMTBa)₂ の 42 日間混餌投与試験における組織中銅濃度 (mgCu/kg)

群	組織中銅残留濃度				
	筋肉	肝臓	腎臓	皮膚・脂肪	脛骨
Cu-(HMTBa) ₂ 添加群	0.531	30.465 ^a	4.583	1.401	0.763
無機態銅添加群	0.513	18.372 ^{ab}	3.690	1.409	0.639
対照群	0.556	6.834 ^b	3.594	1.056	0.642

a, b: 同列内において、同じアルファベットを含む場合は有意差なし、同じアルファベットを含まない場合は有意差あり (p<0.05)

(4) 残留試験 (豚③)

豚 (平均日齢 20 日、154 頭/群 (22 頭×7 区画)) に Cu-(HMTBa)₂、硫酸銅又は三塩基性塩化銅を 21 日間給餌投与する残留試験が実施された。各試験群の添加銅濃度を表 15 に示した。全ての動物は、基礎飼料としてフェーズ I (7 日間) 及びフェーズ II (14 日間) において組成の異なる飼料を給餌した。基礎飼料の銅含量は、フェーズ I 飼料では 13 mgCu/kg 飼料、フェーズ II 飼料では 8 mgCu/kg 飼料であった。フェーズ I 飼料には高用量の酸化亜鉛 (3,000 mgZn/kg 飼料) を添加した。試験終了時に 1 区画ごとに中程度の大きさの豚を選び、肝臓中の銅、マンガン、亜鉛及び鉄の濃度を原子吸光度法によって分析した。

結果を表 16 に示した。

肝臓中の銅濃度は、対照群と比較し、硫酸銅添加群及び Cu-(HMTBa)₂ 添加群は有意に高く、硫酸銅添加群及び Cu-(HMTBa)₂ 添加群間に有意差はみられなかった。他の臓器では、各ミネラル濃度 (銅、マンガン、亜鉛又は鉄) について試験群間で有意な差はみられなかった。(参照 26)

3 飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令 (昭和 51 年 7 月 24 日農林省令第 35 号) でいうブロイラー用飼料の「前期用」に相当すると考えられる。

表 15 被験飼料中の添加銅濃度(mgCu/kg 飼料)

群	添加銅濃度		
	硫酸銅	三塩基性塩化銅	Cu-(HMTBa) ₂
三塩基性塩化銅添加群	0	150	0
Cu-(HMTBa) ₂ 添加群	0	0	150
硫酸銅添加群	150	0	0
対照群	6	0	0

注:飼料 1 kg 当たりの他の各種ミネラル添加量は、ヨウ素 : 0.26 mg、Fe : 140 mg、Mn : 30 mg、セレン : 0.25 mg、亜鉛 : 140 mg である。

表 16 豚を用いた Cu-(HMTBa)₂ の 21 日間混餌投与試験における肝臓中ミネラル濃度(mg/kg)

群	肝臓中微量元素濃度			
	銅	亜鉛	マンガン	鉄
塩基性塩化銅添加群	48.80 ^b	918.9	9.00	475.4
Cu-(HMTBa) ₂ 添加群	73.32 ^a	916.4	9.43	550.5
硫酸銅添加群	52.12 ^{ab}	909.7	8.38	501.8
対照群	39.82 ^b	776.7	10.12	436.3

注:試験群当たり 7 頭 (各区画から 1 頭を抽出) の平均値

a, b: 同列内において、同じアルファベットを含む場合は有意差なし、同じアルファベットを含まない場合は有意差あり (p<0.05)

(5) 残留試験 (鶏①)

鶏 (採卵鶏、28 羽/群 (4 羽×7 区画)) に Cu-(HMTBa)₂ 又は硫酸銅を 56 日間混餌投与する残留試験が実施された。

各試験群の添加ミネラル (銅、亜鉛及びマンガン) 濃度及びその分析値を表 17 に示した。

試験 8 週目に 4 試験群 (T1、T2、T3 及び T6) から各群 10 ずつ卵を採取し、各卵中の銅濃度 (全卵) を ICP-OES によって測定した。

結果を表 18 に示した。

分析した 40 個の卵のうち、4 個 (全て T1 試験群) の濃度が検出限界以上 (1.21 mg/kg) であった。(参照 25、27)

表 17 飼料中の添加ミネラル濃度及び分析値 (mg/kg 飼料)

群	添加ミネラル濃度			分析値		
	銅	亜鉛	マンガン	銅	亜鉛	マンガン
T1: 無機態ミネラル添加群	6 ^a	35 ^a	20 ^a	11	82	69
T3: Cu-(HMTBa) ₂ 推奨添加群	6	35 ^a	20 ^a	11	79	60
T2: 無機態銅上限添加群	25 ^a	150 ^a	150 ^a	36	186	145
T6: Cu-(HMTBa) ₂ 上限添加群	25	150 ^a	150 ^a	37	185	158

・全ての動物に基礎飼料として NRC (1994) 推奨の栄養成分 (銅、亜鉛及びマンガン以外) を含む飼料を給与。

a: 硫酸銅、硫酸亜鉛又は硫酸マンガンを添加

表 18 鶏を用いた Cu-(HMTBa)₂ の 56 日間混餌投与試験における全卵中のミネラル濃度 (mgCu/kg)

群	全卵中銅濃度
T1: 無機態ミネラル添加群	1.293 (4 個で検出)
T3: Cu-(HMTBa) ₂ 推奨群	1.210 (非検出)
T2: 無機態銅上限添加群	1.210 (非検出)
T6: Cu-(HMTBa) ₂ 上限添加群	1.210 (非検出)

濃度は検出限界以下の値の卵の濃度を検出限界の値として平均値を算出

(6) 残留試験 (鶏②)

鶏 (肉用種、1 日齢、雄、200 羽/群 (50 羽×4 区画; 500 mgCu/kg 飼料投与群を除く) 又は 100 羽/群 (50 羽×2 区画/群; 500 mgCu/kg 飼料投与群)) に Cu-(HMTBa)₂ 又は硫酸銅を 14 又は 35 日間混餌投与 (0, 10, 25, 50, 125, 250 又は 500 mgCu/kg 飼料) する残留試験が実施された。基礎飼料としてスターター (初期用) 飼料 (0~14 日齢用) 及びグロワー (成長期用) 飼料 (14-35 日齢) を用いた。基礎飼料及び銅添加飼料の銅含量測定結果を表 19 に示した。

投与 14 日及び 35 日後に供試鶏を剖検し、肝臓及び趾骨における銅濃度を測定した。

結果を表 20 に示した。

趾骨中の銅濃度には銅添加濃度の有意な影響がみられたが、250 mgCu/kg 飼料添加群までの趾骨中銅濃度はほぼ一定であった。銅添加物の種類の違いによる影響はみられなかった。14 日齢の趾骨中銅濃度では、添加物の種類と濃度に相互の有意な影響がみられたが、一定のパターンはみられなかった。35 日齢の趾骨中銅濃度は、有意差はみられなかった。肝臓中の銅濃度については、14 日齢及び 35 日齢ともに添加銅濃度の上昇に伴

って上昇し、250 及び 500 mgCu/kg 飼料添加群では対照群と比較して顕著かつ有意に増加した。また、500 mgCu/kg 飼料添加群では Cu-(HMTBa)₂ 添加群が硫酸銅添加群と比較して有意に高かった。

EFSA は、銅添加物の低い添加濃度において、基礎飼料中の銅含有量（スターター飼料：17 mgCu/kg 飼料、グロワー飼料⁴：9 mgCu/kg 飼料）の存在が、肝臓中銅濃度に対してマスキング効果を示す可能性があるとして指摘している。また、検証可能なデータから、無機態銅及び Cu-(HMTBa)₂ の銅の肝臓蓄積について、基本的な違いはないとし、その他の可食部位における銅の組織蓄積パターンにも差はないと考察している。（参照 2、28）

表 19 被験飼料中の銅濃度(mgCu/kg 飼料)

銅添加濃度 (mgCu/kg 飼料)	飼料中銅含有量			
	スターター飼料		グロワー飼料	
	硫酸銅	Cu-(HMTBa) ₂	硫酸銅	Cu-(HMTBa) ₂
0	16.998	16.998	9.950	9.950
10	55.418	21.895	23.363	22.050
25	34.383	38.115	33.605	31.705
50	50.400	58.475	37.948	65.530
125	150.925	129.425	131.100	125.950
250	215.525	288.825	222.867	260.275
500	472.100	505.525	485.150	515.300

表 20 鶏を用いた Cu-(HMTBa)₂ の混餌投与試験における組織中銅濃度

A：14 日齢時点における組織中銅濃度(mgCu/kg)

銅添加濃度 (mgCu/kg 飼料)	組織中銅濃度			
	趾骨		肝臓（乾燥）	
	硫酸銅	Cu-(HMTBa) ₂	硫酸銅	Cu-(HMTBa) ₂
0	6.00 ^{cdef}	6.00 ^{cdef}	11.93 ^d	11.93 ^d
10	7.52 ^{abcde}	4.38 ^f	13.17 ^d	15.33 ^d
25	7.62 ^{abcd}	4.90 ^{ef}	10.37 ^d	14.61 ^d
50	5.84 ^{cdef}	5.35 ^{def}	12.84 ^d	12.40 ^d
125	6.34 ^{bcdef}	8.46 ^{abc}	13.92 ^d	12.92 ^d
250	6.84 ^{bcdef}	10.74 ^e	91.21 ^c	114.94 ^c
500	9.30 ^{ab}	9.68 ^{ab}	366.73 ^b	589.33 ^a

a, b, c, d, e, f：各組織において、同じアルファベットを含む場合は有意差なし、同じアルファベットを含まない場合は有意差あり（p < 0.05）

4 飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令（昭和 51 年 7 月 24 日農林省令第 35 号）でいうブロイラー用飼料の「後期用」に相当すると考えられる。

B： 35 日齢時点における組織中銅濃度(mgCu/kg)

銅 添 加 濃 度 (mgCu/kg 飼料)	組 織 中 銅 濃 度			
	趾 骨		肝 臓 (乾 燥)	
	硫 酸 銅	Cu-(HMTBa) ₂	硫 酸 銅	Cu-(HMTBa) ₂
0	2.33	2.33	11.43 ^d	11.43 ^d
10	1.78	1.97	10.19 ^d	13.52 ^d
25	2.48	2.82	13.01 ^d	13.68 ^d
50	2.49	3.25	13.00 ^d	11.61 ^d
125	2.35	2.53	14.44 ^d	13.35 ^d
250	2.94	2.45	50.64 ^{cd}	88.09 ^c
500	4.06	4.86	383.89 ^b	617.62 ^a

a, b, c, d：各組織において、同じアルファベットを含む場合は有意差なし、同じアルファベットを含まない場合は有意差あり (p < 0.05)

(7) 残留試験 (鶏③)

鶏 (肉用鶏、雄、25羽/群 (5羽×5区画)) に Cu-(HMTBa)₂ 又は硫酸銅を 21 日間混餌投与 (0、75、150 又は 225 mgCu/kg 飼料) する残留試験が実施された。投与 21 日後 (試験終了時) に供試鶏を剖検し、胆汁及び肝臓を採取して区画ごとにプールし、濃度を測定した。

その結果、飼料中に添加した銅濃度に応じて、肝臓及び胆汁中の銅濃度の増加がみられたが、同じ銅添加濃度では、Cu-(HMTBa)₂ と硫酸銅添加群間で肝臓中の銅濃度に有意差はみられなかった。(参照 2)

(8) 残留試験 (すずき)

すずき (試験開始時体重 65 g、80 匹/群 (20 匹×4 区画)) に Cu-(HMTBa)₂ 又は硫酸銅を 8 週間混餌投与 (0 又は 4 mgCu/kg 飼料) する残留試験が実施された。基礎飼料として半精製飼料又は実用飼料を用いた。

各試験群に添加した飼料中の銅濃度及びその分析値を表 21 に示した。

結果を表 22 に示した。

飼料への銅添加により、肝臓中銅濃度は半精製飼料投与群でのみ有意上昇した。筋肉中の銅濃度は飼料の影響を受けなかった。半精製飼料給餌群と比較して実用飼料給与群では肝臓中銅濃度は有意に高値であった。(参照 29)

表 21 被験飼料中の添加銅濃度及び分析値(mgCu/kg 飼料)

群	飼料	銅添加物：添加濃度	分析値
S0 群	半精製	添加せず	3.13
SI4 群	半精製	硫酸銅：4	9.36
SM4 群	半精製	Cu-(HMTBa) ₂ ：4	8.05
P0 群	実用	添加せず	7.37
PI4 群	実用	硫酸銅：4	10.9
PM4 群	実用	Cu-(HMTBa) ₂ ：4	10.8

表 22 すずきを用いた Cu-(HMTBa)₂ の 8 週間混餌投与試験におけるの組織中銅濃度(mgCu/kg)

群	組織中銅残留濃度		
	肝臓	筋肉	骨
S0 群	8.77±0.56 ^a	0.21±0.02	0.39±0.05
SI4 群	19.5±1.41 ^b	0.25±0.03	0.42±0.07
SM4 群	18.2±1.3 ^b	0.21±0.01	0.41±0.06
P0 群	33.3±4.50 ^c	0.21±0.00	0.48±0.09
PI4 群	35.0±2.89 ^c	0.21±0.01	0.32±0.03
PM4 群	34.1±2.76 ^c	0.23±0.03	0.37±0.07

n=4

a, b, c：各組織において、同じアルファベットを含む場合は有意差なし、同じアルファベットを含まない場合は有意差あり (p<0.05)

(9) 残留試験 (ばなめいえび)

ばなめいえび (体重 0.6 g、33 匹/群 (11 匹 × 3 区画)) に基礎飼料 (12.8 mgCu/kg 飼料) 又は基礎飼料に銅、亜鉛及びマンガンからなる無機態ミネラル (63.3、99.9 又は 185 mgCu/kg 飼料) 若しくは Zn-(HMTBa)₂、Mn-(HMTBa)₂ 及び Cu-(HMTBa)₂ からなる有機ミネラル混合飼料添加物 (39.3、64.0、86.2 又は 102 mgCu/kg 飼料) を添加した飼料を 8 週間混餌投与する残留試験が実施された。

投与期間終了後、全身及び肝臓中の銅濃度を測定した。

全身の銅濃度については、有機態ミネラル添加群は、基礎飼料添加群及び同等濃度の無機態ミネラル添加群と比較して、有意に高値だったが、有機態ミネラル添加群の各濃度間において有意差はみられなかった。

肝臓中の銅濃度については、有機態ミネラル添加群は、最小濃度添加群を除き、基礎飼料と比較し有意に高値だったが、同等濃度添加群間では差はみられなかった。(参照30)

4. 遺伝毒性試験

(1) Cu-(HMTBa)₂に関する遺伝毒性試験

Cu-(HMTBa)₂の遺伝毒性試験結果を表 23 にまとめた。

Cu-(HMTBa)₂の遺伝毒性試験では、細菌を用いた復帰突然変異試験の結果は陰性、*in vitro*の染色体異常試験の結果が陽性であったが、*in vivo*の小核試験では陰性であった。

表 23 Cu-(HMTBa)₂ の遺伝毒性試験結果

試験系	試験内容	対象	用量	結果	参照
<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> TA98、TA100、TA102、TA1535、TA1537	0 (0.5% MC ^a)、51.2、128、320、800、2,000、5,000 µg/plate (±S9) 0 (0.5% MC)、0.8、2.53、8、25.3、80、253、800 µg/plate (+S9)	陰性	2、31
	染色体異常試験	チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞	試験 1-1 0 (0.5% MC)、300、350 µg/mL (-S9) 3 時間処理、17 時間培養 試験 1-2 0 (0.5% MC)、300、350 µg/mL (+S9) 3 時間処理、17 時間培養 試験 2-1 0 (0.5% MC)、50、100、175、225 µg/mL (-S9) 20 時間処理・培養 試験 2-2 0 (0.5% MC)、100、150、200、225、300、325、375 µg/mL (+S9) 3 時間処理、17 時間培養	陽性	2、32
<i>in vivo</i>	小核試験	マウス骨髄細胞(ICR系、雌各6匹/群)	雄：175、350、700 mg/kg 体重/日 2 日間強制経口投与、24 時間後採取	陰性	2、33

a:メチルセルロース

(2) 銅化合物の遺伝毒性に関する知見

これまでに得られている銅化合物の遺伝毒性に関する知見について整理した。

① グルコン酸銅

食品安全委員会は、グルコン酸銅について、変異原性試験の結果 (*S. typhimurium* TA97 株及び TA102 株) から、1 mg/plate まで変異原性は認められていないとしている。また、銅はポリフェノール類の存在下では、*in*

in vitro において酸化的遺伝子障害を惹起することが報告されているが、これらはいずれも試験管内の試験であり、銅濃度は数 ppm と高くないが、ポリフェノール類の濃度は数百 ppm と高く、ポリフェノールが代謝を受けずに高濃度で生体内に存在することは考え難いこと、また、銅がフリーのイオン状態で試験されているが、体内にはフリーのイオン状態の銅は存在しないと考えられることから、ヒトの体内でこのような酸化的遺伝子傷害の反応が起こることはないと推察している。(参照 10)

② オキシシン銅

2013 年に食品安全委員会はオキシシン銅に生体において問題となる遺伝毒性はないものと評価している。(参照 34)

③ 硫酸銅及び硝酸銅

硫酸銅及び硝酸銅の遺伝毒性試験の結果を表 24 に示した。

なお、本表では、硫酸銅と硫酸銅五水和物と確認できるものについては区別して表記した。

in vitro の *Bacillus subtilis* 168 株を用いた復帰突然変異試験、ラット初代肝細胞を用いた不定期 DNA 合成 (UDS) 試験、チャイニーズハムスター肺由来 V79 細胞を用いた突然変異試験及び姉妹染色分体交換試験並びに *in vivo* の腹腔内投与後の染色体異常試験及び小核試験において陽性であったが、*in vitro* の *S. typhimurium* を用いた復帰突然変異試験等のその他の試験及び *in vivo* の経口投与後の小核試験は陰性であった。

表 24 硫酸銅及び硝酸銅の遺伝毒性試験

試験系		対象	用量	結果	参照
<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA102	硫酸銅五水和物 10、30、100、300、1,000、 3,000 nM/plate (±S9)	陰性	35、36
		<i>S. typhimurium</i> TA97、TA102	硫酸銅 各々 0、10、50、100、500、 1,000 µg /plate (±S9)	陰性	37
		<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100	硫酸銅 ~5,000 µg /plate (± S9)	陰性	35、38
		<i>Bacillus subtilis</i> 168	0、0.1、0.2、0.4、0.8、 2.0 mM	陽性	39、40
	DNA 損傷試験 (SOS クロモ試験)	<i>Escherichia coli</i> PQ37	硫酸銅五水和物 1~1,000 nM/ml (-S9)	陰性	35、39、41

	不 定 期 DNA 合成 (UDS) 試験	ラット初代肝細胞	硫酸銅五水和物 7.9、15.7、31.4、78.5 μM/L (±ヒドロキシ尿素、10 mM)	陽性	35、42、43
	突然変異 試験(8-ア ザグアニ ン耐性)	チャイニーズハ ムスター肺由来 (CHL) V79 細胞	硝酸銅 0.01、0.1 mM	陽性	35、42、44
	姉妹染色 分体交換 試験	CHL V79 細胞	硝酸銅 0.01~0.5 mM	陽性	35、42、44
<i>in vivo</i>	染色体異 常試験	マウス (Swiss Albino 系、雄、6 匹/群) 骨髄細胞	硫酸銅五水和物 0、1.1、1.65、2、3.3、6.6 mg/kg 体重 単回腹腔内投与、6、12 及 び 24 時間後採取	陽性	35、39、 42、45
	小核試験	マウス (CBA 系、 雄、5 ^a ~6 匹/群) 骨髄細胞	硫酸銅五水和物 6.6、13.2、19.8 mg/kg 体 重 単回投与、24 又は 48 時 間後採取	陰性	35、46
		マウス (Swiss 系、雌雄不明、3 匹/群) 骨髄細胞	硫酸銅五水和物 0、5、10、20 mg/kg 体重 2 回腹腔内投与、最終投 与 6 時間後採取	陽性 ^b	35、42、47
		ラット (CD 系ア ルビノ、12 匹、 妊娠雌) 着床前 胚、母動物骨髄細 胞 ^c	硫酸銅 8 mg/kg 体重 単回腹腔内投与、30 時間 後採取	陰性	39、48

a : 手技の過失により 1 匹除外された。

b : 陽性対照群が設けられておらず、参照 42 では解釈困難とされている。

c : 着床前胚を採取した母動物のうち 7 匹から骨髄細胞を採取した。

④ 塩化銅に関する知見

塩化銅の遺伝毒性の結果を表 25 に示した。

塩化銅については、*in vitro* の 3 試験が陰性であった。

表 25 塩化銅の遺伝毒性試験

試験系	対象	用量	結果	参照	
<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98、TA102、 TA1535、 TA1537	塩化銅(Ⅱ) 160、200 mgCu/kg (± S9)	陰性	35、49
	DNA修復試験 (Rec assay)	<i>B. subtilis</i> H17、M45	塩化銅(Ⅰ)、塩化銅(Ⅱ) 0.05M	陰性	35、50
		<i>B. subtilis</i> H17、M45	塩化銅(Ⅰ)、塩化銅(Ⅱ) 0.005～0.5 M	陰性	35、51

(3) HMTBa の遺伝毒性に関する知見

食品安全委員会は、HMTBa の遺伝毒性について、その代謝物であるメチオニンとともに、別添の対象外物質評価書「メチオニン」において、生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと評価している。

(4) Cu-(HMTBa)₂ の遺伝毒性に関するまとめ

以上の知見から、Cu-(HMTBa)₂ を含む銅化合物については、染色体異常誘発性を有するものの、遺伝子突然変異誘発性はないと考えられた。この機序については、銅は酸化還元活性遷移元素であり、潜在的に Fenton/Haber-Weiss 反応⁵を触媒し、活性酸素種が生成することが知られていること(参照 52、53) から、銅の染色体異常誘発性は活性酸素種が生成したことによる間接的な影響と考えられた。

また、ヒトに対する銅の遺伝毒性については、過負荷の条件における場合を除いて予見されておらず、通常のヒトの経口摂取の範囲においては、一般的に遺伝毒性があるとは考えられていない。(参照 52～54)

HMTBa については、生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと評価している。

したがって、食品安全委員会肥料・飼料等調査会は、Cu-(HMTBa)₂ が飼料添加物として適切に使用される場合において、食品を通じて、生体にとって特段問題となる遺伝毒性は生じないと考えた。

5. 急性毒性試験

Cu-(HMTBa)₂ の急性毒性試験の結果を表 26 に示した。

⁵ 過酸化水素及び超酸化物からヒドロキシラジカルを発生させる反応。鉄が触媒となり反応を進行させる。

表 26 Cu-(HMTBa)₂ の急性毒性試験結果

動物種	性別(匹数)	投与経路	LD ₅₀ (mg/kg 体重)	参照
ラット	雌 (9 匹)	強制経口	300~500 mg/kg ^a	55

a: EFSA の評価書では >2,000 mg/kg 体重とされているが、これは Mn-(HMTBa)₂ の結果であると考えられる。(参照：2、55~57)

なお、銅化合物に関する経口急性毒性に関する知見として、食品安全委員会は、グルコン酸銅のマウスでの急性毒性について、雄の LD₅₀ は 1,350 mg/kg 体重、雌の LD₅₀ は 1,250 mg/kg 体重とする報告があるとしている。

また、国際化学物質安全性計画 (ICPS) は、次のとおりとりまとめている。

ラット、マウス等を用いた広範囲な急性毒性試験が実施されており、例えば、ラットにおける LD₅₀ として、硫酸銅では 120 mgCu/kg 体重、塩化銅では 66 mgCu/kg 体重、水酸化銅では 651 mgCu/kg 体重、酸化銅では 417 mgCu/kg 体重といった結果が報告されている。

これらの結果から、最も高い可溶性を示す塩類 (硫酸銅、塩化銅等) は、低可溶性である塩でない銅化合物 (水酸化銅、酸化銅等) よりも、ほぼ総じて急性毒性が強いことが示されるとしている。

また、種差としては、硫酸銅に関する入手可能な情報から、ラットは、家畜よりも銅に対して感受性が低いようである。この傾向は、反復ばく露を伴う研究においても明らかであるとしている。

様々な急性毒性試験において、経口致死量に近づくにつれて、銅の毒性所見として過度の唾液分泌、嘔吐、下痢、胃出血、心拍数の上昇、低血圧、溶血発作、痙攣、麻痺等がみられるとしている。(参照 42)

6. 亜急性毒性試験

Cu-(HMTBa)₂ について、亜急性毒性試験は実施されていない。

なお、銅化合物に関する亜急性毒性試験に関する知見として、ラットへの塩化銅 (150、300 又は 600 mgCu/kg 飼料) の 60 日間混餌投与試験において、300 及び 600 mgCu/kg 飼料投与群で対照群と比較して血清 AST 及び ALT 活性の上昇がみられる。また、硫酸銅の 1,250 mgCu/kg 飼料の投与では肝臓の壊死所見が、硫酸銅の 1,500 mgCu/kg 飼料の投与では肝障害が、グルコン酸銅又は硫酸銅の 1,600 mgCu/kg 飼料で投与では死亡率の増加等が、それぞれみられる。(参照 10)

7. 慢性毒性及び発がん性試験

Cu-(HMTBa)₂ について、慢性毒性及び発がん性試験は実施されていない。

なお、銅に関して、JECFA は、1982年にイヌの1年間反復投与試験における NOEL を約 5 mg/kg 体重/日とし、これに基づき暫定 MTDI を 0.05 ~0.5 mg/kg 体重と評価している。(参照 10、58、59)

また、EFSA は飼料添加物としての硫酸銅の評価において、銅化合物の発がん性について 1987年の国際がん研究機関 (IARC) の見解 (参照60) を引用し、グループ 3 のオキシ銅についてヒトへの発がん性に関して分類できないとしている。また、2003年の SCF の見解 (参照 35) を引用し、銅化合物の発がん性に関するラット及びマウスでの研究は発がん性の可能性を示さなかったとする一方で、利用可能な研究の限界のためにある程度の不確実性が存在するとしている。(参照 52)

8. 生殖発生毒性試験

Cu-(HMTBa)₂ について、実施されていない。

なお、EFSA は、飼料添加物としての硫酸銅の評価において、銅化合物の繁殖毒性について、1998年の IPCS の報告書 (参照 42) の見解を引用し、げっ歯類を用いた試験では妊娠期間中の銅化合物 12 mgCu/kg 体重/日以上のおく露で胚・胎児毒性を誘導するとしている。(参照 52)

9. 対象動物における飼養試験

(1) 耐容試験

① 牛 (子牛)

牛 (ホルスタイン種、雄子牛、6 頭/群) に Cu-(HMTBa)₂ 又は硫酸銅を上限添加濃度の最大約 1.3 倍となる 45 mgCu/kg 飼料までの添加濃度で 57 日間混餌投与する耐容試験が実施された。

その結果、平均 1 日増体量、飼料効率等の生産性パラメーター、血液検査結果及び血液生化学的検査結果について試験群間で有意な差はみられなかった。(参照 25、61)

② 豚 (子豚)

豚 (交雑種 (LY) の離乳子豚、雌雄 80 頭/群 (雌雄各 5 頭×8 区画)) に Cu-(HMTBa)₂ 又は硫酸銅を上限添加濃度の最大 2 倍となる 340 mgCu/kg 飼料までの添加濃度で 42 日間混餌投与する耐容試験が実施された。

一日増体量及び摂餌量については、高添加群で低下した。また、高添加群では、銅源の種類にかかわらず、血液学的検査及び血液生化学的検査に影響がみられた。

上限量である 170 mgCu/kg 飼料の混餌投与では、Cu-(HMTBa)₂ 投与群の方が無機態銅投与群と比較して血中総タンパク質、体重、平均増体量及び飼料摂取量が高値であることを除き、差はみられなかった。

なお、EFSA は、本実験計画の問題として、銅過剰投与において亜鉛及び

マンガンが高用量であることから、唯一の可変因子としての高用量の銅の影響、特に Cu-(HMTBa)₂ 過剰投与の影響を評価することができないとしている。(参照 24、25)

食品安全委員会は、本試験の結果について、飼料への高濃度のミネラルの投与による飼養成績への影響がみられるものの、上限値 (170 mgCu/kg 飼料) での Cu-(HMTBa)₂ の飼料への添加では、豚に対して毒性影響はみられないと考えた。

③ 鶏 (肉用鶏)

鶏 (肉用鶏、雄、200 羽/群 (50 羽×4 区画 ; 500 mgCu/kg 飼料投与群を除く) 又は 100 羽/群 (50 羽×2 区画/群 ; 500 mgCu/kg 飼料投与群)) に Cu-(HMTBa)₂ 又は硫酸銅を上限添加濃度の最大 20 倍となる 500 mgCu/kg 飼料までの添加濃度で 35 日間混餌投与する耐容試験が実施された。

結果を表 27 に示した。

銅添加濃度 250 mgCu/kg 飼料までは、生産性に関するパラメーターについて、ほぼ変化がみられなかった。なお、500 mgCu/kg 飼料添加群では死亡率の上昇、体重の著しい減少が有意にみられた。この添加濃度は、鶏に関する毒性量 (300~500 mg/kg) (NRC, 1980) に相当する。(参照 2、28)

以上から、食品安全委員会は、本試験において、上限値 (25 mgCu/kg 飼料) 以内の Cu-(HMTBa)₂ の飼料への添加では、鶏に対して毒性影響はみられないと考えた。

表 27 鶏を用いた Cu-(HMTBa)₂ 混餌投与試験における生産能力パラメーター A : 14 日齢での生産能力パラメーター

銅 添 加 濃 度 (mgCu/kg 飼料)	体 重 (kg)		飼 料 要 求 率		死 亡 率 (%)	
	硫酸銅	Cu-(HMTBa) ₂	硫酸銅	Cu-(HMTBa) ₂	硫酸銅	Cu-(HMTBa) ₂
0	0.384	0.384	1.480 ^c	1.480 ^c	1.50	1.50
10	0.375	0.390	1.490 ^c	1.468 ^c	0.50	1.00
25	0.363	0.377	1.502 ^c	1.520 ^c	1.00	2.00
50	0.377	0.378	1.504 ^c	1.562 ^{bc}	1.00	1.00
125	0.368	0.381	1.684 ^a	1.462 ^c	1.50	0.50
250	0.372	0.370	1.471 ^c	1.639 ^{ab}	1.50	0.00
500	0.325	0.349	1.752 ^a	1.264 ^d	1.00	4.00

a, b, c, d : 試験群内で同じアルファベットを含む場合は有意差なし、同じアルファベットを含まない場合は有意差あり (p < 0.05)

B : 35 日齢での生産能力パラメーター

銅添加濃度 (mgCu/kg 飼料)	体重 (kg)		飼料要求率		死亡率 (%)	
	硫酸銅	Cu-(HMTBa) ₂	硫酸銅	Cu-(HMTBa) ₂	硫酸銅	Cu-(HMTBa) ₂
0	2.012 ^a	2.012 ^a	1.635	1.635	3.00	3.00
10	1.992 ^{ab} (99%)	2.013 ^a (100%)	1.677	1.653	1.50	1.00
25	1.936 ^{abc} (96%)	1.945 ^{ab} (97%)	1.692	1.678	4.50	2.50
50	1.972 ^{ab} (98%)	1.958 ^{ab} (97%)	1.666	1.644	1.50	2.00
125	1.973 ^{ab} (98%)	1.928 ^{abcd} (96%)	1.687	1.651	3.00	1.00
250	1.963 ^{ab} (98%)	1.924 ^{bcd} (97%)	1.641	1.658	2.50	0.00
500	1.407 ^e (70%)	1.783 ^{cd} (89%)	1.778	1.573	5.00	9.00

a, b, c, d, e : 試験群内 (体重) で同じアルファベットを含む場合は有意差なし、同じアルファベットを含まない場合は有意差あり (P<0.05)。なお、体重について銅添加物による有意差なし、銅濃度による有意差あり (p<0.0001)、相互作用による有意差あり (p<0.0001)。死亡率について銅添加物による有意差なし、銅濃度による有意差あり (p<0.0009)、相互作用による有意差なし。

④ 鶏 (産卵鶏)

鶏 (産卵鶏、28羽/群 (4羽×7区画)) に Cu-(HMTBa)₂ を上限添加濃度の3倍となる 75 mgCu/kg 飼料で 56 日間混餌投与する耐容試験が実施された。対照群として硫酸銅投与群を設定した。

生産性に関するパラメーター (死亡率、体重、増体量、飼料摂取量)、卵生産性に関するパラメーター (平均卵重、平均卵数、産卵日量及び飼料効率)、卵質に関するパラメーター (卵黄色及び卵殻厚) を記録した。また、血液学的検査、血液生化学的検査を推奨添加群及び高添加群について実施した。1 試験群当たりの検体数は 10 とした。

その結果、生産性、卵生産性及び卵質に関するパラメーターについて、各試験群間で有意差はみられなかった。

血液学的パラメーター及び血液生化学的パラメーターについても、投与による明確な毒性学的影響はみられなかった。(参照 25、27)

食品安全委員会は、本試験の結果について Cu-(HMTBa)₂ の投与による影響は限定的であり、銅投与量と投与物との明瞭な関連性は認められないと考えた。

⑤ ひらめ

ひらめ (試験開始時体重 6.8 g、30 匹/群) に Cu-(HMTBa)₂ を上限添加濃度の 3.2 倍となる 80 mgCu/kg 飼料 (測定値 : 85.68 mgCu/kg 飼料) までの添加濃度で 14 週間混餌投与する耐容試験が実施された。

半精製飼料（銅含量 0.68 mgCu/kg 飼料）を基礎飼料とし、Cu-(HMTBa)₂ 若しくは硫酸銅を 5、10、15、20、40 又は 80 mgCu/kg 飼料で添加又は対照群として基礎飼料のみとした飼料を 1 日当たり体重の 2~3%の量を、1 日 2 回に分けて混餌投与（投与量各 0.125、0.25、0.375、0.5、1.0 又は 2.0 mg/kg 体重/日相当）した。

増体量に関する結果を表 28 に示した。

生存率については、銅添加物の種類又は添加濃度の影響はみられなかった。赤血球数については、Cu-(HMTBa)₂ 10 mgCu/kg 飼料及び 15 mgCu/kg 飼料投与群が他の群より高値であった。肝臓のチオバルビツール酸反応物質は、Cu-(HMTBa)₂ 5 mgCu/kg 飼料及び 10 mgCu/kg 飼料投与群、硫酸銅 10 mgCu/kg 飼料投与群で最も低値であった。肝臓の Cu-Zn SOD 活性は、Cu-(HMTBa)₂ 10 mgCu/kg 飼料添加群で最も高値であったが、硫酸銅 10 mgCu/kg 飼料添加群との間に有意差はみられなかった。（参照 1、62）

本試験においては、Cu-(HMTBa)₂ は、硫酸銅と同様に 80 mgCu/kg 飼料の投与において有意かつ顕著な体重増加率の低下が、40 mgCu/kg 飼料の添加では軽度ではあるが有意な体重増加率の低下がみられた。

したがって、食品安全委員会は、Cu-(HMTBa)₂ の適切な使用量の範囲において、ひらめにおいて特に問題となる毒性影響はみられていないと考えた。

表 28 ひらめを用いた Cu-(HMTBa)₂ の 14 週間混餌投与試験における体重への影響（増体率/14 日）（%）

添加濃度 (mgCu/kg 飼料)	Cu-(HMTBa) ₂ 投与群 (対照群比%)	硫酸銅投与群 (対照群比%)
5	278.85 ^c (106)	266.50 ^d (101)
10	302.22 ^a (115)	285.55 ^{bc} (109)
15	290.86 ^b (111)	265.57 ^d (101)
20	261.81 ^{de} (100)	254.77 ^e (97)
40	244.28 ^f (93)	229.82 ^g (87)
80	161.04 ^h (61)	148.22 ⁱ (56)
対照群（基礎飼料のみ）	262.85 ^{de}	

a,b,c,d,e,f,g,h,i : 同じアルファベットを含む場合は有意差なし、同じアルファベットを含まない場合は有意差あり (p < 0.05)

基礎飼料の銅含量は 0.68 mgCu/kg 飼料

⑥ ばなめいえび

ばなめいえび（試験開始時体重 0.39±0.003 g、48 匹/群（6 匹×8 区画/群）に Cu-(HMTBa)₂ を上限添加濃度の 1.66 倍投与となる 83 mgCu/kg 飼料までの添加濃度で 6 週間混餌投与する耐容試験が実施された。

添加群として基礎飼料（半精製飼料）に Cu-(HMTBa)₂ (26~83 mgCu/kg 飼料) を添加し、対照群として硫酸銅 (55~363 mgCu/kg 飼料) 投与群が

設定された。

6週間後の生存率は89.58～100%と高く、試験群間で有意な差はみられなかった。体重についても、銅の混餌投与による、低下傾向はみられなかった。(参照63)

食品安全委員会は、本試験においてCu-(HMTBa)₂の投与による毒性影響は認められないと考えた。

(2) 飼養試験

牛(肉牛及び乳牛)、豚、鶏(肉用鶏及び産卵鶏)又は水産動物(すずき)を用いて、Cu-(HMTBa)₂に関する飼養試験が複数実施されている。牛では12～35 mgCu/kg 飼料を103～267日間、豚では8～170 mgCu/kg 飼料を21日～3年間、鶏では5～25 mgCu/kg 飼料を42日～9週間、すずきでは4 mgCu/kg 飼料を8週間混餌投与する試験が実施されている。

これらの試験において、Cu-(HMTBa)₂投与に関連する毒性影響はみられなかった。(参照1、18～24、26、29、64～69)

(3) 対象動物における銅の中毒について(参考資料⁶)

銅の耐容性は動物種によって幅が大きく、羊及び育成期までの子牛では銅含量の多い育成期以降用の配合飼料又は飼料添加物を給与することで、急性中毒が発生する場合だけでなく、要求量を僅かに超えても慢性中毒事例が発生する場合がある。また、海外では銅含量の多い土壌で飼育した場合でもこれら動物に中毒事例がみられることがある。いずれの場合でも、中毒症例における肝臓中の銅濃度は高濃度で、1,000 mg/kg を超えることも多い。(参照70～75)

10. その他

(1) 対象動物における腸内正常細菌叢に対する影響(参考資料⁷)

EFSAは、2016年に腸内細菌叢プロファイルへの銅摂取の影響について、文献調査に基づく評価を実施している。

豚、鶏及び牛の正常細菌叢プロファイルに対する銅摂取の潜在的な影響について、系統的文献レビューが実施された。豚については28報(229報中)、鶏については17報(106報のうち)が関連性のある文献とされたが、牛については114報のうち関連性のあるものはなかった。

子豚及び肥育豚においては、50 mgCu/kg 飼料において銅が消化管の細菌叢に影響を及ぼす可能性が示されている。特に、クロストリジウム及び大腸菌の集団は、低い銅濃度の影響を受けるとされる。170 mgCu/kg 飼料を

6 一般的な対象動物の銅の中毒に関する知見であることから、参考資料とした。

7 本剤は抗菌性物質でなく、また、銅を含有する飼料添加物に関する一般的な性状に関する知見であることから、参考資料とした。

超える硫酸銅としての銅は、子豚及び育成（肥育）豚における乳酸菌の集団を減少させる。出荷豚において、硫酸銅としての銅の飼料への添加は、大腸及び糞便試料中のレンサ球菌の集団並びに大腸内の尿素分解性細菌の集団を減少させるとともに、大腸におけるウレアーゼ活性、小腸におけるアミノ酸脱カルボキシル化及び脱アミノ化を減少させた。子豚では、硫酸銅としての銅のレンサ球菌集団及びウレアーゼ活性に対する影響はみられなかった。硫酸銅として 100～250 mgCu/kg 飼料を子豚用飼料に添加すると、細菌の菌種数を減らし、細菌叢の類似度を低下させることによって、消化管内の細菌群集構造が有意に変化した。

肉用鶏での研究から、低濃度（50 mg/kg 飼料）であっても、銅が消化管の細菌叢に影響を及ぼす可能性が示されている。特に、クロストリジウムの集団は、銅濃度が低くても影響を受ける可能性があることが示唆された。また、200 mgCu/kg 飼料を超える濃度では、無機態又は有機態の銅は、乳酸菌及び大腸菌群の集団に影響を与え、筋胃内容の pH を低下させ、重度の筋胃び爛を引き起こす可能性が示されている。（参照 76、77）

Ⅲ. 国際機関等における評価

1. EFSA での評価

EFSA (FEEDAP)は、2008年に Cu-(HMTBa)₂を全ての動物種に飼料添加物として使用した場合の対象動物及び食品を介したヒトへの安全性について評価した。

肉用鶏への投与試験において Cu-(HMTBa)₂は安全であると結論したが、銅に対する感受性は動物種間、更には系統間でも差があり、鳥類は銅に対して最も耐容性を有することから、肉用鶏での Cu-(HMTBa)₂に関する安全性に基づいてすべての動物種での安全性を担保することはできないとした。また、組織残留性について、Cu-(HMTBa)₂は無機態銅と比較して大きく異なることはないと考えが、その根拠となる知見は限られたものであり、可食部の銅の濃度を直接調べた知見は含まれていないとしている。Cu-(HMTBa)₂の毒性については、急性毒性試験及び遺伝毒性試験の結果から、他の飼料添加用銅化合物と比較して新たな毒性を示すとは考えられないと結論した。

食品を介したヒトへの安全性については、銅摂取量に関する最新のデータ及び他の認可されている銅添加物と比較して組織中の銅の残留濃度が高いというワーストケースシナリオに基づいてモデル計算が行われた結果であっても、食品を介したヒトのばく露量は銅の UL (EU : 5 mg/人/日)を超えず、EU規制値の最大濃度での飼料添加物としての Cu-(HMTBa)₂の使用によって食品を介したヒトの安全性に関する懸念は生じないと結論した。(参照 2)

2009年、Cu-(HMTBa)₂申請メーカーから追加提出された対象動物及び食品を介したヒトの安全性に関する知見について評価が実施された。

その結果、既存の飼料添加物である硫酸銅と比較して、Cu-(HMTBa)₂の子豚、採卵鶏及び育成子牛の耐容性に関して、新たな又は従来と異なる懸念を示す知見はみられなかったとされた。このため EFSA は、既に評価された Cu-(HMTBa)₂の肉用鶏に対する安全性についても考慮した上で、既に認可されている硫酸銅と比較して Cu-(HMTBa)₂の使用は対象動物における安全性に関するより大きな懸念を提起せず、Cu-(HMTBa)₂は飼料中の銅の最大規制濃度以下では全ての動物種に対して安全であると結論した。

食品を介したヒトへの安全性については、豚は他の動物種と比較して飼料中の銅含量が高く (170 mg/kg)、飼養期間を通じて高濃度の銅を飼料に添加することから、豚における残留について注目された。しかしながら、Cu-(HMTBa)₂についても、銅の最大規制含量以下での飼料への添加では、豚を含む畜産物を介したヒトの安全性に関する懸念はないと評価している。(参照 25)

2. EFSA での細菌の薬剤耐性等に対する飼料添加物としての銅の影響に関する評価及び新しい基準値の設定 (参考資料)

EFSA は 2012 年に、腸内及び土壌細菌中のマクロライド耐性発現に対する銅の影響に関して利用可能な知見から、動物でのマクロライド耐性は抗生物質投与を起源とし、飼料中の高濃度の銅の使用を起源とするものではな

く、薬剤耐性状況全体に銅耐性細菌がどれだけ寄与しているかを現時点で定量化することは困難であるとしている。（参照 52）

また、2016年に銅の飼料添加による腸内細菌叢、環境細菌の銅耐性及び薬剤耐性のリスクについて再検討を実施し、銅を含む重金属が抗生物質耐性の増加に寄与するかについては依然として不明なままであるとしている。

（参照 76）

さらに、同年に飼料中の銅濃度の見直しに関する評価を行い、ほ乳豚の飼料中銅濃度について、これまで12週齢まで170 mgCu/kgとされていた基準を、全月齢一律25 mg/kgへ削減することを提案した。（参照 76）

これを受けて、EUは2018年7月に、豚の生理学的な銅の必要性等についても考慮した上で、飼料中の銅濃度（Cu-(HMTBa)₂含む）に関する新しい基準を設定した。これによると、豚における飼料中の銅濃度は、生後4週目までは150 mgCu/kg、5～8週目までは100 mgCu/kgとし、以後は25 mgCu/kgとされている。（参照 78）

3. JECFAにおける銅に関する評価

JECFAはCu-(HMTBa)₂に関する評価を行っていない。

銅については、評価書（WHO FAS 17, 1982）において以下のように評価されている。

銅は動物とヒトでは必須微量元素であり、多くの重要な酵素系において極めて重要な役割を果たし、正常な血液造成や細胞代謝に密接に関係している。ヒトでの銅の吸収割合は摂取量の25～60%であり、食事によって変動することが知られている。銅の吸収は、亜鉛やカドミウムのような他の微量元素やアスコルビン酸のような有機物によって低下する可能性がある。主な排泄経路は糞便であり、尿中からの排泄は僅かである。成人体内の銅総量は70～150 mgCuと推定され、肝臓、脳、心臓及び腎臓の濃度が最も高い。ヒトの適正な銅一日摂取量は6か月齢以下の幼児では0.5～0.7 mgCu/人/日と、成人では2～3 mgCu/人/日以下と推定している。通常、食品中の銅含有量は栄養必要量に適合している。

銅は必須微量元素であるが、高濃度の摂取によって急性毒性の症状が現れる。偶発的又は意図的な銅、特に硫酸銅の大量摂取が、ヒトの死亡原因となっている。ヒトの経口致死用量は約200 mgCu/kg体重と考えられているが、食品や飲料水中の高濃度の銅は味を損なうとしている。

慢性の銅中毒が実験動物、特に銅に高い感受性を示す羊でみられている。単胃動物は銅に対する耐性が高いとされ、II. の7. に記載したとおり、イヌの1年間反復投与試験での銅のNOELは約5 mg/kg体重であったとされている。銅のグルクロン酸塩やヨウ化物はマウス及びラットに胎児毒性（胚毒性）を示さず、銅の動物又はヒトに対する発がん性の証拠はみられなかったとしている。

ヒト幼児に対する銅の慢性毒性に関しては少数の報告がみられるが、成人

についての報告はない。ウィルソン病患者⁸を除いて、通常、銅はヒトに対して蓄積性の毒性物質ではないと考えられるとしている。

食事由来の銅の背景ばく露に関連した栄養データは、食品中の銅含量は栄養要求量（2～3 mg/日）を満たしていることを示し、特に高濃度の銅を含む水を多量に摂取する乾燥地域ではこの摂取レベルを大きく超過している可能性があるが、現時点において、そのような地域で有害作用がみられたという情報は見当たらないとしている。以上のことから、最大一日負荷量 0.5 mg/kg 体重というこれまでの暫定的評価が全ての供給源からの MTDI 0.05～0.5 mg/kg 体重/日として再確認されたとしている。（参照 59）

4. JECFA 及び EFSA での飼料における HMTBa の評価

別添の対象外物質評価書「メチオニン」を参照。

8 常染色体劣性遺伝で遺伝する胆汁中への銅排泄障害による先天性銅過剰症

IV. 食品健康影響評価

飼料添加物である Cu-(HMTBa)₂ は、日本において、一日摂取許容量は設定されていない。

Cu-(HMTBa)₂ は、HMTBa と銅がキレート結合したものであり、動物の消化管内では HMTBa 及び銅がそれぞれ吸収され、HMTBa はメチオニンに代謝された上でタンパク質の構成成分等として、銅は骨の形成や種々の酵素等の成分として、生体内で利用されると考えられる。

食品安全委員会は 2019 年に、動物に投与された HMTBa について、「細胞内タンパク質の連続的な代謝に利用され、メチオニンが過剰になったとしても、動物体内で代謝され、蓄積されることはないことから、食品を通じて動物用医薬品及び飼料添加物由来のメチオニンを人が過剰に摂取することはないと考えた。」と評価している。

銅について、食品安全委員会は 2008 年に、清涼飲料水中の成分としての食品健康影響評価を実施し、UL を 9 mgCu/人/日と設定している。また、銅を含有する飼料添加物として既にペプチド銅及び硫酸銅（乾燥・結晶）が指定されている。

Cu-(HMTBa)₂ を飼料添加物として対象動物に混餌投与した試験では、無機態銅を投与した場合と比較し、肝臓において銅の濃度が高い傾向がみられたが、筋肉を含む他の組織中の蓄積濃度に大きな差は認められなかった。したがって、飼料添加物として適切に使用される場合の残留濃度が、日本で指定されている銅を含有する飼料添加物と比較して、大きく異なる可能性は低いと考えた。

遺伝毒性試験では、銅について、染色体異常誘発性を有するが遺伝子突然変異誘発性はないと考えた。銅の遺伝毒性については、過負荷の条件下での場合を除いて予見されておらず、通常のヒトの経口摂取の範囲においては一般的に遺伝毒性があるとは考えられていないことから、Cu-(HMTBa)₂ が飼料添加物として適切に使用される場合において、食品を通じて、生体にとって特段問題となる遺伝毒性は生じないと考えた。

亜急性毒性試験、慢性毒性試験及び発がん性試験並びに生殖発生毒性試験は実施されていないが、対象動物を用いた飼養試験において毒性影響はみられなかった。

したがって、従来から日本で指定されている銅を含有する飼料添加物と比較して、食品を介したヒトへの毒性影響が大きく異なる可能性は低いと考えた。

以上のことから、Cu-(HMTBa)₂ が飼料添加物として適切に使用される限りにおいては、食品を通じてヒトの健康に影響を与える可能性は無視できる程度と考えた。

〈別紙：検査値等略称〉

略称等	名称
ALT	alanine aminotransferase : アラニンアミノトランスフェラーゼ
AST	aspartate aminotransferase : アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
EC	European Commission : 欧州委員会
EFSA	European Food Safety Authority : 欧州食品安全機関
EU	European Union : 欧州連合
CHL V79 細胞	V79 Chinese hamster lung cell : チャイニーズハムスター肺由来 V79 細胞
CHO 細胞	Chinese hamster ovary cell : チャイニーズハムスター卵巣細胞
Cu	銅
Cu-(HMTBa) ₂	2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニン銅
Cu-Zn SOD	Cu-Zn superoxide dismutase : 銅-亜鉛スーパーオキシドジスムターゼ
HMTBa	2-hydroxy-4-methylthio butyrate acid : 2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニン (2-ヒドロキシ-4-メチルチオ酪酸)
IARC	International Agency for Research on Cancer : 国際がん研究機関
ICC	Indian childhood cirrhosis : インド小児肝硬変
ICP-OES	Inductivity coupled plasma Optical Emission Spectrometry : ICP 発光分光分析
IOM	Institute of medicine : 米国医学研究所
IPCS	International Programme on Chemical Safety : 国際化学物質安全性計画
JECFA	Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives : FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
LD ₅₀	Lethal Dose 50 : 半数致死量
LOAEL	Lowest-Observed-Adverse-Effect Level : 最小毒性量
MC	Methylcellulose : メチルセルロース
Mn	マンガン
Mn-(HMTBa) ₂	2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニンマンガン
MTDI	Maximum Tolerable Daily Intake : 最大耐容一日摂取量
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level : 無毒性量
NOEL	No Observed Effect Level : 無作用量
NRC	National Research Council : 米国学術研究会議

UL	Upper Level of Intake : 耐容上限摂取量
UDS	unscheduled DNA synthesis : 不定期 DNA 合成
WBC	White Blood Cell : 白血球
Zn	亜鉛
Zn-(HMTBa) ₂	2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニン亜鉛

〈参照〉

- 1 ノーバス・インターナショナル：ミントレックス銅 飼料添加物指定審査用資料 抄録（非公表）
- 2 EFSA (Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed(FEESAP)): Safety and efficacy of Mintrex®Cu (Copper chelate of hydroxy analogue of methionine) as feed additive for all species, Scientific Opinion of the Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed. *The EFSA Journal*. 2008; 693, 1-19
- 3 農林水産省：飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令（昭和 51 年農林省令第 35 号）
- 4 農林水産省：銅、亜鉛等を含有する飼料の取扱いについて（平成 10 年 3 月 31 日付け 13 畜 B 第 296 号 農林水産省畜産局長通知）
- 5 農林水産省：銅、亜鉛等を含有する飼料の取扱いについて（平成 10 年 3 月 31 日付け 10-9 農林水産省流通飼料課長通知）
- 6 農林水産省：飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律の一部を改正する等の法律等の施行について（平成 15 年 6 月 30 日付け 15 生畜第 2139 号）
- 7 食品安全委員会：飼料添加物評価書「2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニン亜鉛」2018 年 2 月
- 8 厚生労働省：「日本人の食事摂取基準（2015 年版）」策定検討会報告書 2014
- 9 厚生労働省：平成 28 年国民健康・栄養調査報告
- 10 食品安全委員会：「添加物グルコン酸銅の使用基準改正に係る食品健康影響評価に関する審議結果」2004 年 5 月
- 11 Singh P and Seth A: Indian Childhood Cirrhosis - A Forgotten Entity. *Indian Pediatr*. 2017; 54(3): 239-40.
- 12 Sriramachari S and Nayak NC: Indian childhood cirrhosis: several dilemmas resolved. 2008; *Indian J Med Res*. 128: 93-6.
- 13 ノーバス・インターナショナル：ミントレックスマンガン 飼料添加物指定審査用資料 資料 3-5（非公表）
- 14 Liu Y, Ma YL, Zhao JM, Vazquez-Añón M and Stein HH: Digestibility and retention of zinc, copper, manganese, iron, calcium, and phosphorus in pigs fed diets containing inorganic or organic minerals. *J Anim Sci*. 2014; 92: 3407-15.
- 15 ノーバス・インターナショナル：ミントレックスマンガン 農業資材審議会飼料分科会への指摘事項意見書
- 16 ノーバス・インターナショナル：ミントレックス亜鉛 飼料添加物指定審査用資料 資料 2-5（非公表）
- 17 Dibner JJ: Review of the metabolism of 2-hydroxy-4-(methylthio)butanoic acid. *World Poultry Science Journal (review)*. 2003; 59: 99-110.
- 18 ノーバス・インターナショナル：ミントレックス銅 飼料添加物指定審査用資料 資料 3-7（非公表）
- 19 ノーバス・インターナショナル：ミントレックス銅 飼料添加物指定審査用資料 資料 3-3（非公表）
- 20 ノーバス・インターナショナル：ミントレックス銅 飼料添加物指定審査用資料 資料 3-4（非公表）

- 21 ノーバス・インターナショナル：ミントレックス銅 飼料添加物指定審査用資料 資料 4-6 (非公表)
- 22 ノーバス・インターナショナル：ミントレックス銅 飼料添加物指定審査用資料 資料 3-20 (非公表)
- 23 ノーバス・インターナショナル：ミントレックス銅 飼料添加物指定審査用資料 文献 3-17 (非公表)
- 24 ノーバス・インターナショナル：ミントレックス銅 飼料添加物指定審査用資料 資料 4-3 (非公表)
- 25 EFSA (Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed(FEESAP)): Scientific Opinion on the safety of a copper chelate of hydroxy analogue of methionine (Mintrex®Cu) as feed additive for all species. Scientific Opinion of the Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed. The EFSA Journal. 2009; 7(11):1382.
- 26 ノーバス・インターナショナル：ミントレックス銅 飼料添加物指定審査用資料 資料 3-6 (非公表)
- 27 ノーバス・インターナショナル：ミントレックス銅 飼料添加物指定審査用資料 資料 4-4 (非公表)
- 28 ノーバス・インターナショナル：ミントレックス銅 飼料添加物指定審査用資料 資料 4-5 (非公表)
- 29 ノーバス・インターナショナル：ミントレックス銅 飼料添加物指定審査用資料 資料 3-8 (非公表)
- 30 Katya k, Lee S, Yun H, Dagoberto S, Browdy CL, Vazquez-Anon M and Bai SC: Efficacy of inorganic and chelated trace minerals (Cu, Zn and Mn) premix sources in Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone) fed plant protein based diets. Aquaculture. 2016; 459: 117-23.
- 31 ノーバス・インターナショナル：ミントレックス銅 飼料添加物指定審査用資料 資料 5-2 (非公表)
- 32 ノーバス・インターナショナル：ミントレックス銅 飼料添加物指定審査用資料 資料 5-3 (非公表)
- 33 ノーバス・インターナショナル：ミントレックス銅 飼料添加物指定審査用資料 資料 5-4 (非公表)
- 34 食品安全委員会：農薬評価書「オキシシン銅」2013年4月
- 35 Scientific Committee on Food, European Commission: Opinion of the Scientific Committee on Food on the Tolerable Upper Intake Level of Copper. European Commission. 2003.
- 36 Marzin DR and Phi HV: Study of the mutagenicity of metal derivatives with *Salmonella typhimurium* TA102. Mutation Research.1985; 155: 49-51.
- 37 藤田博、中野雅行、佐々木美枝子: *Salmonella thphimurium* TA97,TA102 を用いた食品添加物の変異原性試験 (第 3 報) .東京衛研年報 1988; 39: 343-350
- 38 Moriya M, Ohta T, Watanabe K, Miyazawa T, Kato K and Shirasu Y: Further mutagenicity studies on pesticides in bacterial reversion assay systems. Mutation Research. 1983; 116: 185-216.
- 39 United States Department of Health and Human Services: NTP Technical Report on Toxicity Studies of Cupric Sulfate. 1993.

- 40 Berek I and Kiss I: Study of auxotroph mutants induced by copper sulphate in *Bacillus subtilis*. *Acta Microbiologica Academiae Scientiarum Hungaricae*. 1974; 21: 297-304.
- 41 Olivier Ph and Marzin D: Study of the genotoxic potential of 48 inorganic derivatives with the SOS chromotest. *Mutation Research*. 1987; 189: 263-9.
- 42 International Programme on Chemical Safety (IPCS) INCHEM. WHO(ed.): Copper. Environmental Health Criteria (EHC) 200; World Health Organization. 1998.
- 43 DenizEAU F and Marion M: Genotoxic effects of heavy metals in rat hepatocytes. *Cell biology and toxicology*. 1989; 5(1):15-25.
- 44 Sideris EG, Charalambous SC, Tsolomyty A and Katsaros N: Mutagenesis; carcinogenesis and the metal elements-DNA interaction. *Nutrition, Growth, and Cancer*. 1988; 13-25.
- 45 Agarwal K, Sharma A and Talukder G: Clastogenic effects of copper sulphate on the bone marrow chromosomes of mice in vivo. *Mutation Research*. 1990; 243: 1-6.
- 46 Tinwell H and Ashby J: Inactivity of copper sulphate in a mouse bone-marrow micronucleus assay. *Mutation Research*. 1990; 245: 223-6.
- 47 Bhunya SP and Pati PC: Genotoxicity of an Inorganic Pesticide, Copper Sulphate in mouse in vivo Test System. *Cytologia*. 1987; 52: 801-8.
- 48 Ornaghi F and Giavini E: Induction of micronuclei in pre-implantation rat embryos in vivo. *Mutation Research*. 1989; 225: 71-4
- 49 Wong PK: Mutagenicity of heavy metals. *Bull. Environ. Contam. Toxicol*. 1988; 40: 597-603.
- 50 Nishioka H; Mutagenic activities of metal compounds in bacteria. *Mutation Research*. 1975; 31: 185-9
- 51 Kanematsu N, Hara M and Kada T: REC assay and mutagenicity studies on metal compounds. *Mutation Research*. 1980; 77: 109-16.
- 52 EFSA (Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP)): Scientific Opinion on the safety and efficacy of copper compounds (E4) as feed additives for all animal species: cupric sulphate pentahydrate based on a dossier submitted by Manica S. p.A. *EFSA Journal*. 2012; 10 (12): 2969.
- 53 EFSA (Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP)): Scientific Opinion on the safety and efficacy of copper compounds (E4) as feed additives for all animal species (cupric acetate, monohydrate; basic cupric carbonate, monohydrate; cupric chloride, dehydrate; cupric oxide; cupric sulphate, pentahydrate; cupric chelate of amino acids, hydrate; cupric chelate of glycine, hydrate), based on a dossier submitted by FEFANA asbl. *EFSA Journal*. 2015; 13 (4): 4057.
- 54 The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products Veterinary Medicines Evaluation Unit: Summary Report "Copper chloride, Copper Gluconate, Copper Hepatanoate, Copper oxide, Copper Methionate, Copper Sulphate and Dicopper oxide". EMEA/MRL/431/98-Final. 1998.
- 55 ノーバス・インターナショナル: ミントレックス銅 飼料添加物指定審査用資料 資料 5-1 (非公表)

- 56 ノーバス・インターナショナル：ミントレックスマンガ 飼料添加物指定
審査用資料 資料 5-1（非公表）
- 57 EFSA (Panel on Additives and Products or Substances used in Animal
Feed(FEESAP)): Safety and efficacy of Mintrex. ®. Mn (Manganese
chelate of hydroxy analogue of methionine) as feed additive for all species,
Scientific Opinion of the Panel on Additives and Products or Substances
used in Animal Feed. The EFSA Journal. 2008; 692: 1-17.
- 58 JECFA (the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives):
Toxicological Evaluation on Certain Food Additives, 26 th Report of the
Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. 1982; 683.
- 59 JECFA (the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives):
Toxicological evaluation of certain food additives. Copper. WHO Food
Additives Series. 1982; No. 17: 551.
- 60 IARC (International Agency for Research on Cancer): IARC Monographs
on the Evaluation of the Carcinogenic Risks to Humans – Overall
Evaluations of Carcinogenicity:An Update of IARC Monographs. 1987;
Volume 1 to 42, Supplement 7, p.61.
- 61 ノーバス・インターナショナル：ミントレックス銅 飼料添加物指定審査用
資料 資料 5-5（非公表）
- 62 ノーバス・インターナショナル：ミントレックス銅 飼料添加物指定審査用
資料 資料 3-13（非公表）
- 63 ノーバス・インターナショナル：ミントレックス銅 飼料添加物指定審査用
資料 資料 3-9（非公表）
- 64 ノーバス・インターナショナル：ミントレックス銅 飼料添加物指定審査用
資料 資料 3-11（非公表）
- 65 ノーバス・インターナショナル：ミントレックス銅 飼料添加物指定審査用
資料 資料 3-14（非公表）
- 66 ノーバス・インターナショナル：ミントレックス銅 飼料添加物指定審査用
資料 資料 3-16（非公表）
- 67 ノーバス・インターナショナル：ミントレックス銅 飼料添加物指定審査用
資料 資料 3-17（非公表）
- 68 ノーバス・インターナショナル：ミントレックス銅 飼料添加物指定審査用
資料 資料 3-18（非公表）
- 69 ノーバス・インターナショナル：ミントレックス銅 飼料添加物指定審査用
資料 資料 3-19（非公表）
- 70 辻本 元代表監修、日本獣医内科学アカデミー編：獣医内科学第 2 版，“銅中
毒”，文英堂出版，2014 年；p322-3.
- 71 稲葉 睦、加藤 敏英、小岩 政照、酒井 健夫、日笠 喜朗、山岸 則夫ら監修、
家畜感染症学会編集：子牛の医学、“銅中毒”，緑書房，2014 年；p366.
- 72 Humphreys, DJ. Ed; Veterinary Toxicology, 3rd ed., “chronic copper
poisoning”. Bailliere Tindall. 1988; p38.
- 73 松本 裕一、木野内 久美、壁谷 昌彦、原 恵、大西英高ら：周産期に多発し
たサフォーク種繁殖羊の慢性銅中毒. 日本獣医師会雑誌. 2014; 67(8): 587-
92.
- 74 Bradley CH: Copper poisoning in a dairy herd fed a mineral supplement.
Canadian Veterinary Journal. 1993; 34: 287-92.

- 75 SAC C VS: Disease Surveillance Report: Lamb deaths associated with administration of oral minerals. *Veterinary Record*. 2016; 179(16): 402-5.
- 76 EFSA (Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP)): Revision of the currently authorized maximum copper content in complete feed. *The EFSA Journal*. 2016; 14 (8): 4563.
- 77 Jensen BB: Extensive Literature Search on the “Effects of Copper intake levels in the gut microbiota profile of target animals, in particular piglets”. EFSA Supporting publication. 2016; EN-1024.
- 78 European Commission, Directorate-General for Health and Food Safety: Commission Implementing Regulation (EU) 2018/1039 of 23 July 2018 concerning the authorisation of Copper(II) diacetate monohydrate, Copper(II) carbonate dihydroxy monohydrate, Copper(II) chloride dihydrate, Copper(II) oxide, Copper(II) sulphate pentahydrate, Copper(II) chelate of amino acids hydrate, Copper(II) chelate of protein hydrolysates, Copper(II) chelate of glycine hydrate (solid) and Copper(II) chelate of glycine hydrate (liquid) as feed additives for all animal species and amending Regulations (EC) No 1334/2003, (EC) No 479/2006 and (EU) No 349/2010 and Implementing Regulations (EU) No 269/2012, (EU) No 1230/2014 and (EU) 2016/2261. (23/07/2018, Commission Implementing Regulation (EU) 2018/1039)

清涼飲料水評価書

銅

2008年4月

食品安全委員会

目 次

・ 審議の経緯	．．． 2
・ 食品安全委員会委員名簿	．．． 2
・ 食品安全委員会汚染物質・化学物質専門調査会 合同ワーキンググループ専門委員名簿	．．． 2
・ 食品安全委員会化学物質・汚染物質専門調査会専門委員名簿	．．． 3
・ 要約	．．． 4
I． 評価対象物質の概要	．．． 5
1． 用途	．．． 5
2． 化学名	．．． 5
3． 原子式	．．． 5
4． 原子量	．．． 5
5． 物理化学的性状	．．． 5
6． 現行規制等	．．． 6
II． 安全性に係る知見の概要	．．． 6
1． 国際機関等の評価	．．． 6
2． 暴露状況	．．． 8
III． 食品健康影響評価	．．． 8
・ 参照	．．． 9

<審議の経緯>

2003年7月1日	厚生労働大臣より食品健康影響評価について要請、関係書類の接受
2003年7月18日	第3回食品安全委員会（要請事項説明）
2007年10月22日	第1回化学物質・汚染物質専門調査会清涼飲料水部会
2007年11月28日	第1回化学物質・汚染物質専門調査会幹事会
2008年2月14日	第226回食品安全委員会（報告）
2008年2月14日	より2008年3月14日 国民からの御意見・情報の募集
2008年4月15日	化学物質・汚染物質専門調査会座長より食品安全委員会委員長へ報告
2008年4月17日	第234回食品安全委員会（報告） （同日付で厚生労働大臣に通知）

<食品安全委員会委員名簿>

(2006年6月30日まで)	(2006年12月20日まで)	(2006年12月21日から)
寺田雅昭（委員長）	寺田雅昭（委員長）	見上 彪（委員長）
寺尾允男（委員長代理）	見上 彪（委員長代理）	小泉直子（委員長代理*）
小泉直子	小泉直子	長尾 拓
坂本元子	長尾 拓	野村一正
中村靖彦	野村一正	畑江敬子
本間清一	畑江敬子	廣瀬雅雄**
見上 彪	本間清一	本間清一

*:2007年2月1日から
**:2007年4月1日から

<食品安全委員会汚染物質・化学物質専門調査会合同ワーキンググループ 専門委員名簿>

(2007年3月31日まで)	(2007年9月30日まで)
汚染物質専門調査会	汚染物質専門調査会
安藤 正典	安藤 正典
佐藤 洋（座長）	佐藤 洋（座長）
千葉 百子	千葉 百子
広瀬 明彦	広瀬 明彦
前川 昭彦	前川 昭彦
化学物質専門調査会	化学物質専門調査会
太田 敏博	太田 敏博
立松 正衛（座長代理）	渋谷 淳
廣瀬 雅雄	立松 正衛（座長代理）

<食品安全委員会化学物質・汚染物質専門調査会専門委員名簿>

(2007年10月1日から)

佐藤 洋 (座長)

立松正衛 (座長代理)

阿部宏喜

安藤正典*

井口 弘

圓藤吟史*

圓藤陽子*

太田敏博*

大前和幸

奥田晴宏

香山不二雄

川村 孝

河野公一

佐々木久美子

渋谷 淳*

千葉百子**

津金昌一郎

遠山千春*

永沼 章

長谷川隆一**

広瀬明彦*

前川昭彦*

安井明美

鱒渕英機

※：幹事会

*：清涼飲料水部会

要 約

清涼飲料水に係る化学物質として、銅の食品健康影響評価を行った。

グルコン酸銅の UL を銅として 9 mg/ヒト/日とした評価結果を適用し、清涼飲料水における銅の許容上限摂取量は 9mg/ヒト（成人）/日と設定するのが妥当と判断する。

食品安全委員会においては、食品添加物のグルコン酸銅として銅について評価を行っており、平成 16 年 5 月 27 日付け府食第 588 号をもってグルコン酸銅に係る食品健康影響評価の結果を通知している。評価結果としては、グルコン酸銅の許容上限摂取量 (UL) を銅として 9mg/ヒト/日と設定するとし、なお、今回評価を行った UL は成人を対象としたものであり、乳幼児～小児が過剰に銅を摂取することがないように、適切な注意喚起が行われるべきであるとしている (参照 1)。

I. 当該化学物質の概要

1. 用途

銅は、鉱山排水、工場排水、農薬の混入や生物抑制処理に使用する硫酸銅、塩化銅及び給水装置等に使用する銅管、真ちゅう器具などからの溶出に起因することが多い (平成 4 年の専門委員会報告)。

銅は重要な熱・電気伝導体である。水管、屋根材、家庭用品や化学設備、また芸術品や多くの合金 (例えば、真ちゅうや青銅) にも用いられている。銅の酸化物、塩化物、硫酸塩、酢酸塩、臭化物や炭酸塩は、害虫の抑制、無機染料、食品添加剤、写真術、種子消毒剤、殺菌剤や殺藻剤、電鍍として広く用いられている (参照 2)。

2. 化学名

銅

CAS No. : 7440-50-8

3. 原子式

Cu

4. 原子量

63.5

5. 物理化学的性状

名称	銅	酸化銅 (I)	硫酸銅 (II)、 五水和物	硫酸銅、無水物
物理的性状	赤色の粉末。湿った空気に暴露すると緑色になる。	黄色、赤色、または茶色の結晶性粉末	様々な形状の青色個体	白色の吸湿性の血症
融点 (°C)	1083°C	1232°C	110°C (分解)	—
沸点 (°C)	2595°C	沸点以下 1800°Cで分解	—	沸点以下 650°Cで分解
比重 (水=1)	8.9	6.0	2.3g/cm ³	3.6g/cm ³
水への溶解性	溶けない	溶けない	31.7g/100mL (0°C)	20.3g/100mL (20°C)

6. 現行規制等

(1) 法令の規制値等

水質基準値 (mg/L) : 1.0 (性状¹)

環境基準値 (mg/L) : なし

その他の基準 : 給水装置の構造及び材質の基準 0.1mg/L

(2) 諸外国等の水質基準値またはガイドライン値

WHO (mg/L) : 2.0 (暫定値)、1.0 (性状) (第3版)

EU (mg/L) : 2.0

US EPA (mg/L) : 1.3 (AL ; action level)、1.0 (性状)

II. 安全性に係る知見の概要

1. 国際機関等の評価

(1) WHO 飲料水水質ガイドライン 第3版 (参照3)

IPCS (1998) は、成人における経口摂取許容範囲 (AROI) の上限は不明であるが、おそらく成人では数 mg/日 (数 mg は 2 または 3 mg/日 よりも多いことを意味している) の範囲であって、そんなに多くはないであろうと結論づけた。この評価は、銅で汚染された飲料水が胃腸におよぼす影響に関する研究のみに基づいて行われた。動物に対する毒性に関する入手可能なデータは、ヒトに適したモデルについての不確かさのために、AROI の上限を確立するのに役立つとは考えられなかったが、反応に対する行動様式を確立するのには役立った。

しかしながら、観察される影響は暴露の一時的な側面に影響されるのに加え、24 時間に摂取された全質量または用量よりも摂取された銅の濃度により大きく影響されるため、銅が胃腸に及ぼす影響に関するデータは注意して使用しなければならない。銅の濃度が 3 mg/L を超えるコップ 1 杯の水は、同じ質量の銅を含む 1 L の水を 1 日かけて間欠的に飲むよりも悪心を起こしやすい。

WHO 第2版では、銅の有害影響から保護し、銅に対する正常な恒常性を持った集団に十分な安全マージンを提供するために、飲料水中の銅濃度を暫定的に 2 mg/L と定めた。飲料水中の銅とヒトへの急性胃腸影響の関係は、用量依存的に不確定であり、このガイドライン値は、暫定とされた。Araya et al. (2001, 2003)、Olivares et al. (1998, 2001)、Pizarro et al. (1999, 2001) および Zeitz et al.

(2003)、の試験に基づくと、ガイドライン値 2mg/L は、もはや暫定値ではない。10 mg/日という推奨食事上限値を超えたり、有害な胃腸反応を起こしたりせずに、1日 2~3 L の摂水は、栄養補助剤の使用及び食物からの銅の摂取を可能にするはずである。

ウィルソン病に関係する遺伝子に欠陥のある人や銅に対する恒常性の代謝異常のある人のように、感受性の高い人に対して銅が長い間に及ぼす影響について

¹ 健康影響の観点ではなく、色、濁り、においなど生活利用上障害の生ずるおそれの観点から基準値等が設定されている項目

は、依然として不確かなままである。

さまざまな環境で、配管材料として銅管が広く用いられている。ほとんどの環境では、銅の濃度は上記のガイドライン値以下である。しかし、非常に酸性度の高い水または浸食性の強い水のように、銅濃度を高める条件も存在する。このような環境では銅管使用は適切ではない。

銅の濃度が 1 mg/L を超えると、洗濯物や衛生陶器（バスタブ、トイレ等）に色がつく。2.5 mg/L を超えると、銅は水に好ましくない苦味を付与する。それ以上の濃度では、水の色も影響を受ける。

（2）我が国における水質基準の見直しの際の評価（参照 2）

銅の体内ホメオスタシスの遺伝的障害がない成人にとって、1～10mg/日の濃度で食品から長期間摂取しても明らかな有害影響はない（IOM 2001）。推奨された所要量より少ない長期間毎日の銅の摂取は栄養失調児の貧血、好中球減少、骨無機質脱落を引き起こしうる（IOM 2001）。成人は、子供より銅欠乏症に対して耐性がある。1～10 mg/日の銅の摂取は、ウィルソン病の人、ウィルソン病ヘテロな人、幼児期の銅肝硬変症の一種に遺伝的に罹りやすい乳幼児にとって、有害影響がないとはいえない（NRC 2000）。

IPCS の EHC モノグラフ（WHO 1998a）では、銅の成人における許容経口摂取量範囲の上限は不確かではあるが、おおよそ数（2～3）mg/kg 体重/日であると結論している。この評価は、銅を含む飲料水による消化管への影響だけに基づくものである。しかし、この消化管への影響に関するデータは、ヒトが 24 時間総摂取量をはるかに超えた容量を摂取したときに一過性に認められた影響に基づくものであるため、その取り扱いには注意しなければならない。3 mg/L 以上の銅濃度のグラスいっぱいのは、総量として同程度の 1L の水を 1 日何回かに分けて摂取するよりも吐き気を誘発しやすいと思われる。実験動物における利用可能な毒性データは、作用機序を解明する手助けとはなるが、ヒトへの適切な外挿モデルとしては不確かなものであるため、ヒトへの許容経口摂取量範囲の上限を設定するためには利用できないと考えられる。

1988 年の WHO ガイドライン改正時（WHO 1998b）には、銅による有害影響を引き起こさない暫定基準値として 2 mg/L が設定され、銅の体内ホメオスタシスが正常なヒトにおける安全域が示された。この上限値は、成人においては 1 日 2～3L の飲料水の摂取、栄養学的補給及び 1 日 10mg の食品からの摂取を超えないかまたは有害な消化管反応を引き起こさない範囲で食品からの銅の摂取を許容できるものであり、適切なものであると考えられる。

最近の研究では、消化管に対する飲料水中の銅の影響には閾値があることが示されているが、高感受性の人々、特に乳児やウィルソン病の遺伝子を持つヒトに対する長期間の影響には依然不確かさが残っている。これらの人々に対する知見に乏しい状況であるため、正確な基準値を求めることは、現時点では不可能である。従って 2 mg/L の基準値は依然暫定値である。また、銅は生体にとって必須元素であり、食事成分として必須成分であることは注目しておくべきである。

毒性で問題となるレベルの濃度よりも利水障害の観点から閾値が低く、利水障害に関する評価値に関し、平成4年以降、新たに追加すべき知見はないことから、平成4年の専門委員会の評価値を維持し、洗濯物等への着色を防止する観点から1.0 mg/L以下とすることが適当である。

2. 暴露状況

平成17年の水道統計における銅の水道水の検出状況（表1）は、原水における最高検出値は、水道法水質基準値（1.0mg/L）の20%超過～40%以下（4/5,253地点）であったが、大部分は水質基準値の2%以下（5,178/5,253地点）であった。一方、浄水における最高検出値は、水質基準値の60%超過～80%以下が一箇所で見られたが、大部分は2%以下（5,224/5,030地点）であった。

表1 水道水での検出状況（参照4）

年度	浄水／原水の別	水源種別	測定地点数	基準値に対する度数分布表										
				2%以下	2%超過 4%以下	4%超過 6%以下	6%超過 8%以下	8%超過 10%以下	10%超過 20%以下	20%超過 40%以下	40%超過 60%以下	60%超過 80%以下	80%超過 100%以下	100%超過
				～ 0.02 (mg/L)	～ 0.04 (mg/L)	～ 0.06 (mg/L)	～ 0.08 (mg/L)	～ 0.10 (mg/L)	～ 0.20 (mg/L)	～ 0.40 (mg/L)	～ 0.60 (mg/L)	～ 0.80 (mg/L)	～ 1.00 (mg/L)	1.01 (mg/L) ～
H17	原水	全体	5,253	5,170	19	19	4	35	2	4	0	0	0	0
		表流水	1,031	1,020	7	1	1	2	0	0	0	0	0	0
		ダム、湖沼水	314	306	2	0	2	1	1	2	0	0	0	0
		地下水	3,115	3,068	10	15	0	20	0	2	0	0	0	0
		その他	793	776	0	3	1	12	1	0	0	0	0	0
	浄水	全体	5,224	5,030	98	34	11	33	15	2	0	1	0	0
		表流水	954	937	5	5	1	4	2	0	0	0	0	0
		ダム、湖沼水	299	288	6	1	1	2	0	1	0	0	0	0
		地下水	2,810	2,676	72	24	9	16	11	1	0	1	0	0
		その他	1,158	1,126	15	4	0	11	2	0	0	0	0	0

Ⅲ. 食品健康影響評価

食品安全委員会におけるグルコン酸銅の食品健康影響評価結果の概要は下記のとおりである。

我が国では、グルコン酸類として、グルコン酸銅の他、グルコノデルタラクトン、グルコン酸、グルコン酸亜鉛、グルコン酸カリウム、グルコン酸カルシウム、グルコン酸第一鉄及びグルコン酸ナトリウムが食品添加物として指定されており、グルコン酸類（グルコノデルタラクトン、グルコン酸カルシウム、グルコン酸マグネシウム、グルコン酸カリウム及びグルコン酸ナトリウム）については、1998年にJECFAにおいてADIを「特定せず」と評価している。

グルコン酸銅については、銅としての摂取を評価することが適当であり、また、銅はヒトにとって必須元素であることを踏まえ、銅のULについて評価を行った。

成人で銅を摂取した際の副作用の報告が見当たらないことから、銅についてLOAELは確立されていない。

ヒトにグルコン酸銅（銅として1日10 mg）を12週間投与した結果、影響は認められていない。米国医学学会（IOM）及びEUもこの値をNOAELと評価している。JECFAは、銅についてADIを設定していないが、1982年にイヌの1年間反復投与試験におけるNOELを約5 mg/kg/日とし、これに基づき、暫定MTDIを0.05～0.5 mg/kgと評価している。なお、今回評価を行ったULは成人を対象としたものであり、乳幼児～小児が過剰に銅を摂取することがないように、適切な注意喚起が行われるべきである。成人においても、今後、銅の過剰摂取が生じないように注意が必要であり、実際の摂取量の把握及びその結果を踏まえた措置の検討も必要と考えられる。

これまでの我が国のULは9 mg/ヒト/日と設定されているが、この値は、ヒト12週間投与試験のNOAEL 10 mg/ヒト/日よりも小さい値であり、今回入手した情報からは、これを変更する必要はないと考えられることから、グルコン酸銅のULは銅として9 mg/ヒト/日と評価した。

上記の評価を踏まえ、グルコン酸銅のULを銅として9 mg/ヒト/日とした評価結果は妥当であると判断する。このUL値は、「第六次改定日本人の栄養所要量」の食事摂取基準による銅の許容上限摂取量を踏まえた結果である。その後、食事摂取基準は、「日本人の食事摂取基準2005年版」に改定され、UL値は10 mg/ヒト/日に変更されたが、本評価では、より安全性の高い値を保持する観点から、清涼飲料水における銅の許容上限摂取量は9mg/ヒト（成人）/日と設定するのが妥当と判断する。

なお、子供については、銅は成人と同様に必須ミネラルであり、銅欠乏が生じないために目安量や推奨量が定められているが、過剰摂取にならないように注意することが重要である。

[参考]

水質基準値の2%である濃度0.02 mg/Lの水を1日あたり2L摂水した場合、1日あたりの摂取量は、0.04 mg/ヒト/日と考えられる。この値は、UL9 mg/ヒト/日の225分の1である。

<参照>

- 1 食品安全委員会：グルコン酸銅に係る食品健康影響評価
- 2 厚生労働省：水質基準の見直しにおける検討概要 平成15年4月、厚生科学審議会、生活環境水道部会、水質管理専門委員会 2003
- 3 WHO: Copper in Drinking-water Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. 2004
- 4 日本水道協会：水道統計 平成17年度 2007

対象外物質※評価書

メチオニン

第3版

2019年1月

食品安全委員会

※ 食品衛生法（昭和22年法律第233号）第11条第3項の規定に基づき、人の健康を損なうおそれのないことが明らかであるものとして厚生労働大臣が定める物質

目次

	頁
○ 審議の経緯	3
○ 食品安全委員会委員名簿	4
○ 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿	4
○ 要約	6
I. 評価対象動物用医薬品及び飼料添加物の概要	7
1. 用途	7
2. 一般名	7
3. 化学名	7
4. 分子式	7
5. 分子量	7
6. 構造式	7
7. 使用目的及び使用状況等	8
II. 安全性に係る知見の概要	10
1. 体内動態試験	10
(1) メチオニン	10
(2) HMTBa	10
2. 残留試験	11
3. 遺伝毒性試験	11
4. 急性毒性試験	17
5. 亜急性毒性試験	17
(1) 10週間亜急性毒性試験（ラット）	17
(2) 12週間亜急性毒性試験（ラット）	17
(3) 32週間亜急性毒性試験（ハムスター）	18
6. 慢性毒性及び発がん性試験	18
(1) 二段階肝発がん性試験（ラット）	18
7. 生殖発生毒性試験	18
8. その他の知見	18
III. 国際機関等における評価	19
1. JECFA における評価	19
2. EFSA における評価	19
IV. 食品健康影響評価	20
・ 別紙 検査値等略称	21

· 参照 22

〈審議の経緯〉

第1版関係

- 2005年 11月 29日 対象外物質告示（参照¹）
- 2010年 2月 15日 厚生労働大臣より食品衛生法第11条第3項の規定に基づき、人の健康を損なうおそれのないことが明らかである物質を定めることに係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安第0215第10号）
- 2010年 2月 18日 第320回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2010年 3月 12日 第36回肥料・飼料等専門調査会
- 2012年 2月 23日 第420回食品安全委員会（報告）
- 2012年 2月 23日 から2012年3月23日まで 国民からの意見・情報の募集
- 2012年 10月 5日 肥料・飼料等専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
- 2012年 10月 15日 第449回食品安全委員会（報告）
（同日付で食品安全委員会委員長から厚生労働大臣に通知）

第2版関係

- 2017年 8月 25日 第125回肥料・飼料等専門調査会（2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニン亜鉛を飼料添加物に指定することに係る評価要請に伴う審議）
- 2017年 10月 25日 第128回肥料・飼料等専門調査会
- 2017年 12月 13日 肥料・飼料等専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
- 2017年 12月 19日 第678回食品安全委員会（報告）
（同日付で食品安全委員会委員長から厚生労働大臣に通知）

第3版関係

- 2018年 9月 14日 第138回肥料・飼料等専門調査会（2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニンマンガンを飼料添加物に指定することに係る評価要請に伴う審議）
- 2018年 11月 2日 第139回肥料・飼料等専門調査会（2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニンマンガン、2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニン銅及びL-メチオニンを飼料添加物に指定することに係る評価要請に伴う審議）
- 2019年 1月 23日 肥料・飼料等専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
- 2019年 1月 29日 第728回食品安全委員会（報告）
同日付で食品安全委員会委員長から厚生労働大臣に通知

〈食品安全委員会委員名簿〉

(2011年1月6日まで)

小泉 直子 (委員長)
見上 彪 (委員長代理*)
長尾 拓
野村 一正
畑江 敬子
廣瀬 雅雄
村田 容常

* : 2009年7月9日から

(2012年6月30日まで)

小泉 直子 (委員長)
熊谷 進 (委員長代理*)
長尾 拓
野村 一正
畑江 敬子
廣瀬 雅雄
村田 容常

* : 2011年1月13日から

(2015年6月30日まで)

熊谷 進 (委員長)
佐藤 洋 (委員長代理)
山添 康 (委員長代理)
三森 国敏 (委員長代理)
石井 克枝
上安平冽子
村田 容常

(2018年6月30日まで*)

佐藤 洋 (委員長)
山添 康 (委員長代理)
吉田 緑
山本 茂貴
石井 克枝
堀口 逸子
村田 容常

* : 2017年1月7日から

(2018年7月1日から)

佐藤 洋 (委員長*)
山本 茂貴 (委員長代理*)
川西 徹
吉田 緑
香西 みどり
堀口 逸子
吉田 充

* : 2018年7月2日から

〈食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿〉

(2011年9月30日まで)

唐木 英明 (座長)
酒井 健夫 (座長代理)
青木 宙 高橋 和彦
秋葉 征夫 舘田 一博
池 康嘉 津田 修治
今井 俊夫 戸塚 恭一
江馬 眞 細川 正清
桑形 麻樹子 宮島 敦子
下位 香代子 元井 葭子
高木 篤也 吉田 敏則

(2013年9月30日まで)

唐木 英明 (座長*)
津田 修治 (座長代理*)
青木 宙 高橋 和彦
秋葉 征夫 舘田 一博
池 康嘉 戸塚 恭一
今井 俊夫 細川 正清
江馬 眞 宮島 敦子
桑形 麻樹子 山中 典子
下位 香代子 吉田 敏則

* : 2011年11月2日から

(2017年9月30日まで*)

今井 俊夫 (座長)
山中 典子 (座長代理)
荒川 宜親 菅井 基行
今田 千秋 高橋 和彦
植田 富貴子 戸塚 恭一
川本 恵子 中山 裕之
桑形 麻樹子 宮島 敦子
小林 健一 宮本 亨
佐々木 一昭 山田 雅巳
下位 香代子 吉田 敏則

* : 2016年10月1日から

(2017年10月1日から)

今井 俊夫 (座長*)

山中 典子 (座長代理*)

新井 鐘蔵 下位 香代子

荒川 宜親 菅井 基行

今田 千秋 高橋 和彦

植田 富貴子 中山 裕之

川本 恵子 宮島 敦子

桑形 麻樹子 山田 雅巳

小林 健一 吉田 敏則

佐々木 一昭

* : 2017年10月25日から

〈第125回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

唐木 英明 (公益財団法人食の安全・安心財団理事長)

〈第128回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

唐木 英明 (公益財団法人食の安全・安心財団理事長)

〈第138回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

唐木 英明 (公益財団法人食の安全・安心財団理事長)

〈第139回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

唐木 英明 (公益財団法人食の安全・安心財団理事長)

要 約

食品衛生法（昭和 22 年法律第 233 号）第 11 条第 3 項の規定に基づき、人の健康を損なうおそれのないことが明らかであるものとして厚生労働大臣が定める物質（対象外物質）とされているメチオニンについて、各種評価書等を用いて食品健康影響評価を実施した。今回、農林水産省から 2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニンマンガン、2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニン銅及び L-メチオニンの飼料添加物の基準及び規格の設定に関する食品健康影響評価要請に際し、遺伝毒性試験の成績等が新たに提出された。

メチオニンは、タンパク質の構成アミノ酸であり、ヒトは通常メチオニンを含むタンパク質を食品から多量栄養素として摂取している。

動物に投与されたメチオニン及び 2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニン（メチオニンの水酸化体であり、体内でメチオニンに代謝される。）は、細胞内タンパク質の連続的な代謝に利用され、メチオニンが過剰になったとしても、動物体内で代謝され、蓄積されることはないことから、食品を通じて動物用医薬品及び飼料添加物由来のメチオニンをヒトが過剰に摂取することはないものと考えられる。

メチオニンは、動物用医薬品、飼料添加物等、様々な分野での使用実績においても、これまでに安全性に関する特段の問題はみられていない。

以上のことから、メチオニンは、動物用医薬品及び飼料添加物として通常使用される限りにおいて、食品に残留することにより人の健康を損なうおそれのないことが明らかであると考えた。

I. 評価対象動物用医薬品及び飼料添加物の概要

1. 用途

動物用医薬品（代謝性用薬）

飼料添加物（飼料の栄養成分その他の有効成分の補給）

2. 一般名

和名：DL-メチオニン、L-メチオニン

英名：DL-methionine、L-methionine

3. 化学名

DL-メチオニン

IUPAC

英名：(2RS)-2-amino-4-methylsulfanylbutanoic acid

CAS (No. 59-51-8)

L-メチオニン

IUPAC

英名：(2S)-2-amino-4-methylsulfanylbutanoic acid

CAS (No. 63-68-3)

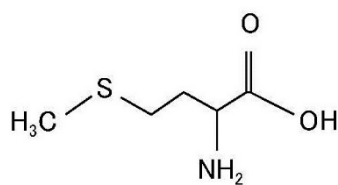
4. 分子式

$C_5H_{11}NO_2S$

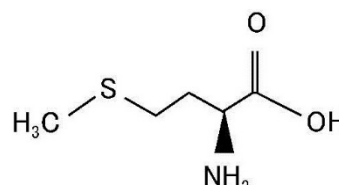
5. 分子量

149.21

6. 構造式



DL-メチオニン



L-メチオニン

(参考)

・ 2 - デアミノ - 2 - ヒドロキシメチオニン

1. 一般名

2 - デアミノ - 2 - ヒドロキシメチオニン

2. 化学名

IUPAC

和名：2-ヒドロキシ-4-メチルチオ酪酸

英名：2-hydroxy-4-(methylthio)butanoic acid

CAS (No. 583-91-5)

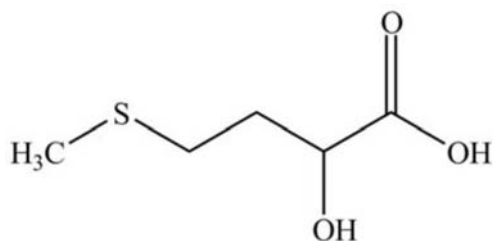
3. 分子式

$C_5H_{10}O_3S$

4. 分子量

150.2

5. 構造式



(参照2)

7. 使用目的及び使用状況等

メチオニンは、タンパク質を構成する 20 種類のアミノ酸の一つで、含硫アミノ酸である。生体内ではメチル基供与体としての役割を担う必須アミノ酸である。(参照3、4)

ヒトは、食品からタンパク質を摂取し、その構成成分であるアミノ酸に加水分解後、吸収し、組織タンパク質の代謝に利用している。

メチオニンは、穀類に不足しがちなアミノ酸であり、アミノ酸バランスの改善に利用される。アミノ酸輸液及び総合アミノ酸製剤としても用いられる。

一般に D-アミノ酸は生化学的に無効であることが知られているが、メチオニンの場合は、例外的に D 体も有効であることが明らかにされている。これは、D-メチオニンがそのままの形で効果を発揮するのではなく、生体内で酵素の作用により D 体が L 体に変化するためとされている。

DL-メチオニンは、鶏¹・豚などの配合飼料のアミノ酸バランスを改善するために用いられている。(参照5)

日本では、動物用医薬品として、メチオニンの補給、メチオニンの欠乏による肝機能障害の改善等を目的とした、DL-メチオニンを有効成分とする製剤が承認されている²。

飼料添加物としては、DL-メチオニン及び 2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニン (HMTBa) が飼料の栄養成分その他の有効成分の補給を目的に使用されており、対象飼料、添加量等の規定はない。

食品添加物としては、DL-メチオニン及びL-メチオニンの使用が認められており、使用基準は定められていない。

ヒト用医薬品としては、L-メチオニンが低タンパク血症、低栄養状態等におけるアミノ酸補給等を目的として用いられている。

食品安全委員会は、飼料添加物として用いる HMTBa の化合物として、2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニン亜鉛 (Zn-(HMTBa)₂) について 2017 年に評価を行っている。(参照6)

今般、2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニンマンガン (Mn-(HMTBa)₂)、2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニン銅 (Mn-(HMTBa)₂) 及び L-メチオニンについて評価要請がなされた。

¹ 本評価書において、原則として実験動物種及び人はカタカナ、動物用医薬品及び飼料添加物の使用対象となる動物等は漢字又はひらがなで記載する。

² 2017年8月現在

II. 安全性に係る知見の概要

本評価書では、各種評価書等の DL-メチオニン、L-メチオニン及び HMTBa に関する主な科学的知見を整理した。

1. 体内動態試験

(1) メチオニン

タンパク質の分解によって生じた遊離アミノ酸は、小腸粘膜を通りナトリウム依存能動輸送によって吸収される。

吸収された遊離アミノ酸は、細胞内タンパク質の連続的な代謝に利用される。遊離されたアミノ酸の約 75%は再利用される。新しいタンパク質にすぐに取り込まれないアミノ酸は速やかに両性代謝中間体に代謝されるため、過剰のアミノ酸は蓄積されない。

メチオニンは、ATP と反応して S-アデノシルメチオニンを生成する。その後プロピオニル-CoA を経てスクシニル-CoA へと変換され、クエン酸回路において利用される。

アミノ酸の分解によって生じた過剰の窒素は、魚類はアンモニアとして直接排泄し、鳥類はアンモニアを尿酸に、高等脊椎動物はアンモニアを尿素に変換して排泄する。(参照 3)

(2) HMTBa

動物に経口投与された Zn-(HMTBa)₂ は、以下に記載した水溶液中の解離状態の比較試験及びヒト結腸がん由来細胞を用いた取込み試験の結果から、上部消化管の酸性条件下で亜鉛と HMTBa にある程度解離し、解離しなかった Zn-(HMTBa)₂ も、腸管で吸収される際には、亜鉛又は HMTBa としてそれぞれが吸収されると考えられている。

Zn-(HMTBa)₂ 又はメチオニン亜鉛について、亜鉛濃度を 0.1、1.0、10 及び 50 mmol/L に調整した水溶液を用いて、pH の変化に伴う解離状態を試算して比較した。

Zn-(HMTBa)₂ の 1.0 mmol/L 以下の水溶液では、pH 5 以下では Zn²⁺で存在する亜鉛は 80%以上であった。10 又は 50 mmol/L の水溶液では、解離状態は減少し、pH 5 付近では Zn²⁺で存在する亜鉛はそれぞれ 40 又は 20%程度であった。

メチオニン亜鉛の水溶液では、pH 5 以下では全濃度においてメチオニン亜鉛の解離状態は高く、Zn²⁺で存在する亜鉛は 80%以上であった。pH 7 付近では、1.0 mmol/L 以下の水溶液では解離状態は高かったが、10 mmol/L 以上では Zn²⁺で存在する亜鉛は 40%前後に減少した。

10 mmol/L 以上の水溶液では、pH 5 以下では Zn-(HMTBa)₂ がメチオニン亜鉛よりも解離し難かった。(参照7、8)

ヒト結腸がん由来細胞 (T84) を用いて、 ^{65}Zn 標識又は ^{35}S 標識したメチオニン亜鉛の腸管上皮細胞への取込みを検討した。培地中のメチオニン亜鉛は、亜鉛濃度として $11.2 \mu\text{mol/L}$ に調整した。培地にはメチオニン亜鉛以外の亜鉛は含まれていなかったが、非放射標識メチオニンは標準的な濃度で含まれていた。 ^{65}Zn 標識又は ^{35}S 標識したメチオニン亜鉛によって細胞を 3、6 又は 9 時間処理し、その後細胞中の放射活性を測定した。

各処理時間後の細胞中へのメチオニン亜鉛の取込みを表 1 に示した。 ^{35}S 標識したメチオニンの細胞への取込みは、 ^{65}Zn の取込みの 0.1%未満であった。

この結果から、メチオニンと亜鉛は異なる機序で細胞に取り込まれると推測された。(参照9)

表 1 ヒト結腸がん由来細胞 (T84) への ^{65}Zn 標識又は ^{35}S 標識したメチオニン亜鉛の取込み (pmol/ 10^6 cells)

処理物質	処理時間 (h)		
	3	6	9
^{65}Zn 標識	56 ± 11	140 ± 27	140 ± 32
^{35}S 標識	0.08 ± 0.001	0.06	0.07 ± 0.02

n=2 平均 ± 標準誤差

解離した HMTBa は受動拡散又は担体輸送によって体内に吸収されると考えられている。(参照 11、12)

吸収された D-又は L-HMTBa は、最初 2-ヒドロキシ酸デヒドロゲナーゼ及び L-2-ヒドロキシ酸オキシダーゼによって立体特異的に酸化されて、2-ケト-(4-メチルチオ)酪酸 (KMB) になる。その後、KMB にアミノ基が転移され、L-メチオニンとなる。D-メチオニンも KMB に変換されてから L-メチオニンとなる。

これら HMTBa に関する酵素は、様々な組織に存在し、肝臓、腎臓等多くの組織で L-メチオニンに変換される。(参照10~12)

2. 残留試験

該当する試験成績なし。

3. 遺伝毒性試験

DL-メチオニン及び L-メチオニンの遺伝毒性試験の結果を表 2 に、HMTBa については参考資料³として $\text{Zn}-(\text{HMTBa})_2$ 、 $\text{Mn}-(\text{HMTBa})_2$ 及び $\text{Cu}-(\text{HMTBa})_2$ を用いた遺伝毒性試験の結果をそれぞれ表 3、表 4 及び表 5 に示した。

³ $\text{Zn}-(\text{HMTBa})_2$ 、 $\text{Mn}-(\text{HMTBa})_2$ 及び $\text{Cu}-(\text{HMTBa})_2$ については、キレートしている金属が HMTBa よりも試験に与える影響が大きいと考えられることから参考資料とした。

表2 メチオニンの遺伝毒性試験結果

検査項目	試験対象	用量	結果	参照	
<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、 TA1537、TA1538	メチオニン ^a 2~2,000 µg/plate (± S9)	陰性	13、14
		<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、 TA1537、TA1538	メチオニン ^a 0.1~2,000 µg/plate (±S9)	陰性	13、14
		<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1537	メチオニン ^a 5,000 µg/plate(±S9)	陰性	13、14
		<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、 TA1537、TA1538	メチオニン ^a ≤10,000 µg/plate (± S9)	陰性	13、14
		<i>S. typhimurium</i> TA92、TA98、TA100、 TA1535、TA1537、TA1538	メチオニン ^a 0.2、2、20、200、 2,000 µg/plate (±S9)	陰性	13、14
		<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、 TA1537、TA1538	メチオニン ^a 4、20、100、500、 2,500 µg/plate(±S9)	陰性	13、14
		<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100	メチオニン ^a 10、20、50、100、 200、500 µg/plate (±S9)	陰性	13、14
		<i>Escherichia coli</i> WP2、 WP2uvrA	メチオニン ^a ≤500 µg/plate (±S9)	陰性	13、14
		<i>E. coli</i> WP2uvrA	D,L-メチオニン 10~1,000 µg/mL ^b (-S9)	陽性	13、14
			D,L-メチオニン 10~1,000 µg/mL ^b (+S9)	陰性	
		<i>E. coli</i> uvrB、uvrBumuC、 uvrAlexA (lacZ53→Lac ⁺)	L-メチオニン 2 mM (30 µg/mL) (- S9)	陰性	13、14
	DNA 損傷 試験	<i>E. coli</i> W3110 (<i>polA</i> ⁺), P3478 (<i>polA</i>)	D,L-メチオニン 500 µg 又は 6 mg/plate(±S9)	陰性	13、14
	DNA 損傷 試験(アル カリ溶出)	チャイニーズハムスター 肺 線維芽 V79 細胞	D,L-メチオニン 0.3、1、3、10 mM (45~1,494 µg/mL) ^c (±S9)	陰性	13、14
遺伝子突然 変異試験	マウスリンパ腫細胞 L5178Y/ <i>Tk</i> ^{+/+}	D,L-メチオニン 0.5~15 mM (74.6~2,238 µg/mL) ^c	陰性	13、14	

		マウスリンパ腫細胞 L5178Y	D,L-メチオニン 46.9~3,000 µg/mL(±S9)	陰性	13、14
染色体異常 試験		チャイニーズハムスター卵巣 由来(CHO)細胞	D,L-メチオニン 1,670、3,300、5,000 µg/mL(±S9)	陰性	13、14
		<i>Saccharomyces cerevisiae</i> D6	D,L-メチオニン 50 µg/mL(±S9)	陰性	13、14
遺伝子転換 試験		<i>S. cerevisiae</i> JD1	D,L-メチオニン ≤750 µg/mL(±S9)	陰性	13、14
		<i>S. cerevisiae</i> D4	D,L-メチオニン 0.3~333 µg/mL(±S9)	陰性	13、14
姉妹染色体 交換試験 (SCE 試験)		ヒトリンパ球	L-メチオニン 21、61、111 µg/mL (-S9)	陰性	13、14
		CHO 細胞	D,L-メチオニン 0.1、1、10、100 µg/mL (±S9)	陰性	13、14
		CHO 細胞	D,L-メチオニン 1,670、3,300、5,000 µg/mL (±S9)	陰性	13、14
		CHO 細胞	D,L-メチオニン 21.88~350 µg/mL (±S9)	陰性	13、14
不定期 DNA 合成 試験 (UDS 試験)		ヒト線維芽細胞 WI-38	D,L-メチオニン 63~1,000 µg/mL (- S9) 125~2,000 µg/mL (+S9)	陰性 ^d	13、14
<i>in vivo</i>	SCE 試験	マウス (CBA/J 系)	メチオニン ^a 1、10、100、1,000 mg/kg 体重 腹腔内投与	陰性	13、14
	小核試験	マウス (B6C3F1 系)	メチオニン ^a 3.7、17.5、35 mg/kg 体重 腹腔内投与	陰性	13、14
		マウス (CD-1 系)	メチオニン ^a 250、500、1,000 mg/kg 体重 腹腔内投与	陰性	13、14

a : 光学異性体の種類については特定されていない。

b : Microtiter fluctuation test による。

c : D,L-メチオニンの分子量として 149.2 を用いて計算した。

d : JECFA の評価 (2006 年、参照 13) では S9 存在下で弱陽性とされているが、EFSA の評価 (2008 年、参照 14) では陰性とされている。

表 3 Zn-(HMTBa)₂ の遺伝毒性試験結果

検査項目	試験対象	用量	結果	参照	
<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、 TA1535、TA1537、 TA102	1.6、8、40、200、1,000、5,000 µg/plate (±S9) ^a	陰性	15
			51.2、128、320、800、2,000、 5,000 µg/plate (±S9) ^b		
<i>in vitro</i>	染色体異常試験	CHO 細胞	125、150、250 µg/mL (−S9、 3 時間処理後 17 時間培養) 50、200、300、400 µg/mL (+S9、 3 時間処理後 17 時間培養)	陽性	16
			10、25、50 µg/mL (−S9、20 時 間処理) 30、50、200 µg/mL (+S9、3 時 間処理後 17 時間培養)		
<i>in vivo</i>	小核試験	マウス骨髄細胞 (ICR 系、雌雄各 6 匹/群)	雄：500、1,000、2,000 mg/kg 体重/日 ^c 雌：125、250、500 mg/kg 体重 /日 2 日間強制経口投与、24 時間後 採取	陰性	17
			雄：250 mg/kg 体重/日 2 日間強制経口投与、24 時間後 採取		

a : −S9 条件下の全菌種の最高用量及び+S9 条件下の TA98 及び TA100 の最高用量で生育阻害がみられた。

b : −S9 条件下の全菌種の 2,000 µg/plate 以上及び+S9 条件下の TA1535 及び TA1537 の 2,000 µg/plate 以上で生育阻害がみられた。

c : 2,000 mg/kg 体重/日投与群の 6 例は、毒性によって 2 日目の投与前に 3 例が死亡し、残りの 3 例は瀕死状態であった。

表 4 Mn-(HMTBa)₂ の遺伝毒性試験結果

試験		対象	用量	結果	参照
<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、 TA102、TA1535、 TA1537	0 (1%CMC ^a)、2,500、5,000 μg/plate (±S9)	陰性	18、19
	染色体異常試験	CHO 細胞	試験 1-1 0 (1%CMC)、700、1,000、1,250 μg/mL (-S9) 3 時間処理、17 時間培養	陰性	18、20
			試験 1-2 0 (1%CMC)、50、500、800、 1,000 μg/mL (+S9) 3 時間処理、17 時間培養		
			試験 2-1 0 (1%CMC)、20、40、80 μg/mL (-S9) 20 時間処理・培養	陰性 ^b	
			試験 2-2 0 (1%CMC)、100、800、1,4 00 μg/mL (+S9) 3 時間処理、17 時間培養		

a: カルボキシメチルセルロース

b: 一部で倍加細胞の増加がみられた。

表 5 Cu-(HMTBa)₂ の遺伝毒性試験結果

試験		対象	用量	結果	参照
<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、 TA102、TA1535、 TA1537	0 (0.5% MC ^a)、51.2、128、320、 800、2000、5,000 µg/plate (± S9) 0 (0.5% MC)、0.8、2.53、8、25.3、 80、253、800 µg/plate (+S9)	陰性	21、22
	染色体異常試験	CHO 細胞	試験 1-1 0 (0.5% MC)、300、350 µg/mL (-S9) 3 時間処理、17 時間培養 試験 1-2 0 (0.5% MC)、300、350 µg/mL (+S9) 3 時間処理、17 時間培養 試験 2-1 0 (0.5% MC)、50、100、175、 225 µg/mL (-S9) 20 時間処理・培養 試験 2-2 0 (0.5% MC)、100、150、200、 225、300、325、375 µg/mL (+S9) 3 時間処理、17 時間培養	陽性	21、23
<i>in vivo</i>	小核試験	マウス骨髄細胞 (ICR 系、雌各 6 匹/ 群)	雄：175、350、700 mg/kg 体重 /日 2 日間強制経口投与、24 時間後 採取	陰性	21、24

a:メチルセルロース

DL-メチオニン及びL-メチオニンの遺伝毒性試験では、*in vitro* の復帰突然変異試験の 1 試験で陽性の結果であった。これは、当該試験が培養液中での復帰変異細菌の増殖を調べるものであり、過剰なメチオニンが栄養要求性の細菌に阻害効果を示し、自然発生した復帰変異細菌の増殖が優位になったためと考察されている。その他の *in vitro* の復帰突然変異試験、遺伝子突然変異試験、染色体異常試験、遺伝子転換試験、DNA 損傷試験、SCE 試験及び UDS 試験は陰性であった。また、*in vivo* の SCE 試験及び小核試験は陰性であった。

Zn-(HMTBa)₂ の遺伝毒性試験では、細菌を用いた復帰突然変異試験は陰性、*in vitro* の染色体異常試験の結果が陽性であったが、*in vivo* の小核試験では陰性であった。

Mn-(HMTBa)₂ の遺伝毒性試験では、*in vivo* の試験は実施されていないが、*in vitro* における、細菌を用いた復帰突然変異試験及び培養細胞を用いた遺伝子突然変異試験はいずれも陰性であった。

Cu-(HMTBa)₂ の遺伝毒性試験では、細菌を用いた復帰突然変異試験は陰性、*in vitro* の染色体異常試験は陽性であったが、*in vivo* の小核試験では陰性であった。

以上から、食品安全委員会は、メチオニンが飼料添加物又は動物用医薬品として用いられた場合、生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと判断した。

4. 急性毒性試験

急性毒性試験の結果について表6に示した。(参照5、7、13、18、25～29)

表6 メチオニン、Zn-(HMTBa)₂、Mn-(HMTBa)₂及びCu-(HMTBa)₂の急性毒性試験結果

物質名	動物	投与経路	LD ₅₀ (mg/kg体重)	参照
L-メチオニン	ラット	腹腔	4,300	5
	鶏	腹腔	3,700	5
D-メチオニン	ラット	腹腔	5,200	5
DL-メチオニン	マウス	経口	>2,000	13
Zn-(HMTBa) ₂	ラット (雌)	経口	500～1,000	7、25
Mn-(HMTBa) ₂	ラット (雌)	経口	>2,000	18、26
Cu-(HMTBa) ₂	ラット (雌)	経口	300～500	27、28
L-メチオニン (大腸菌 K12KCCM11252P株産生)	ラット (雌)	経口	>2,000	29

注：Mn-(HMTBa)₂ と Cu-(HMTBa)₂ については、EFSA の評価書の結果と値が異なるが、これは EFSA の評価書では両者の結果が入違いになっているためと考えられる。

5. 亜急性毒性試験

(1) 10 週間亜急性毒性試験 (ラット)

ラット (SD 系、雄 10 匹) に DL-メチオニンを混餌投与 (0 又は 2,000 mg/kg 体重/日相当) し、10 週間亜急性毒性試験が実施された。

DL-メチオニン投与群の体重が、投与開始 5 週間後及び最終投与後において、軽度な減少を示した。

最終投与後の DL-メチオニン投与群では、明らかな体重増加抑制がみられた、また、肝臓中の酵素活性 (トリプトファンピロラーゼ、アルギナーゼ、ALT 及び AST) 及び中性脂肪濃度が増加したが、ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド濃度の明らかな減少がみられた。

EFSA は、本試験における NOAEL は 2,000 mg/kg 体重/日と判断した。(参照 13、30)

(2) 12 週間亜急性毒性試験 (ラット)

ラット (ホルツマン系、雄、12 匹) に DL-メチオニンを混餌投与 (0 又は 1,000

mg/kg 体重/日相当) し、12 週間亜急性毒性試験が実施された。

投与開始 2 及び 8 週間並びに最終投与後に検査した。投与開始 2 週後の 1,000 mg/kg 体重/日投与群に有意な体重増加抑制がみられたが、投与開始 8 週間後及び最終投与後には対照群と差はみられなかった。また、投与開始 2 週後の 1,000 mg/kg 体重/日投与群に腎臓及び副腎の腫大がみられたが、投与開始 8 週間後及び最終投与後では対照群との間に臓器重量に差はなかった。

EFSA は、NOAEL を設定できなかった。(参照 13、30)

(3) 32 週間亜急性毒性試験 (ハムスター)

ハムスター (雌、20 匹) に DL-メチオニンを含む飼料投与 (0、2,400 mg/kg 体重/日相当) し、32 週間亜急性毒性試験が実施された。

EFSA は、本試験における NOAEL は 2,400 mg/kg 体重/日と判断した。(参照 30)

6. 慢性毒性及び発がん性試験

(1) 二段階肝発がん性試験 (ラット)

ラット (F344 系、雄) を用いた DL-メチオニンの発がん性試験が実施された。ジエチルニトロソアミン (DEN) を単回腹腔内投与 (200 mg/kg 体重) し、5 日後から各群にそれぞれ基礎飼料、1.5%DL-メチオニン含有飼料、0.05%フェノバルビタール (PB) 含有飼料、0.05%ジクロロジフェニルトリクロロエタン (DDT) 含有飼料、0.05%PB 及び 1.5%DL-メチオニン含有飼料又は 0.05% DDT 及び 1.5%DL-メチオニン含有飼料を 72 週間投与し、その後基礎飼料に戻し、103 週後に剖検を行った。DL-メチオニン単独、DL-メチオニン及び PB 又は DDT との混合投与は、DEN により引き起こされる肝発がん率に影響を及ぼさないことが報告された。(参照 5)

7. 生殖発生毒性試験

該当する試験成績なし。

8. その他の知見

メチオニンは、動物用医薬品、飼料添加物等、様々な分野での使用実績においても、これまでに安全性に関する特段の問題はみられていない。(参照31)

Ⅲ. 国際機関等における評価

1. JECFA における評価

JECFA は、2004 年に DL-メチオニンが、flavouring agent として使用される場合において、現在の摂取量では安全性上の懸念はないとされ、現在の使用を認める (Acceptable) と結論している。(参照 32)

2. EFSA における評価

EFSA は、2008 年にメチオニンについて、MSDI⁴ (Maximised Survey-derived Daily Intake) の手法により推定した flavouring substance としての摂取量では安全性上の懸念はないとした JECFA の結論に同意した。(参照 14)

また、EFSA は多くのメチオニンを含む飼料添加物を評価している。これらの評価では、対象動物に使用する飼料添加物中のメチオニンは、動物の組織においてタンパク質の合成に利用され、体内のアミノ酸バランスが一定に保たれる結果、対象動物の体内組織の含量が増加することはなく、過剰な量は排泄されると考察されている。(参照 10、33)

⁴ 年間生産量を人口の 10%及び補正係数で割ることによる摂取量推定法

IV. 食品健康影響評価

メチオニンは、タンパク質の構成アミノ酸であり、ヒトは通常メチオニンを含むタンパク質を食品から多量栄養素として摂取している。

動物に投与されたメチオニン及び HMTBa（メチオニンの水酸化体であり、体内でメチオニンに代謝される。）は、細胞内タンパク質の連続的な代謝に利用され、メチオニンが過剰になったとしても、動物体内で代謝され、蓄積されることはないことから、食品を通じて動物用医薬品及び飼料添加物由来のメチオニンをヒトが過剰に摂取することはないと考えた。

メチオニンは、動物用医薬品、飼料添加物等、様々な分野での使用実績においても、これまでに安全性に関する特段の問題はみられていない。

また、国際機関における食品添加物の **flavouring agent** 又は **flavouring substance** としての評価において、メチオニンの安全性上の懸念はないとされている。

以上のことから、メチオニンは、動物用医薬品及び飼料添加物として通常使用される限りにおいて、食品に残留することにより人の健康を損なうおそれのないことが明らかであると考えた。

<別紙 検査値等略称>

略称	名称
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ [=グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT)]
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ [=グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT)]
ATP	アデノシン三リン酸
Cu-(HMTBa) ₂	2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニン銅
CMC	カルボキシメチルセルロース
DDT	ジクロロジフェニルトリクロロエタン
DEN	ジエチルニトロソアミン
EFSA	欧州食品安全機関
HMTBa	2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニン
KMB	2-ケト-(4-メチルチオ)酪酸
MC	メチルセルロース
Mn-(HMTBa) ₂	2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニンマンガン
JECFA	FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
LD ₅₀	半数致死量
NOAEL	無毒性量
PB	フェノバルビタール
SCE	姉妹染色分体交換
UDS	不定期 DNA 合成
Zn-(HMTBa) ₂	2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニン亜鉛

<参照>

- 1 厚生労働省：食品衛生法第 11 条第 3 項の規定により人の健康を損なうおそれのないことが明らかであるものとして厚生労働大臣が定める物質を定める件（平成 17 年厚生労働省告示第 498 号）
- 2 EFSA (Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed): Scientific Opinion on DL-methionine, DL-methionine sodium salt, the hydroxy analogue of methionine and the calcium salt of methionine hydroxy analogue in all animal species; on the isopropyl ester of methionine hydroxy analogue and DL-methionine technically pure protected with copolymer vinylpyridine/styrene in dairy cows; and on DL-methionine technically pure protected with ethylcellulose in ruminants. The EFSA Journal. 2012; 10 (3): 2623.
- 3 Murray RK, Granner DK, Rodwell VW. 上代淑人 監訳. “タンパク質とアミノ酸の代謝”. イラストレイテッドハーパー・生化学 原書 27 版. 丸善, 2007, p265-93. p487-94
- 4 "メチオニン". 岩波 生物学辞典, 八杉龍一・小関治男・古谷雅樹・日高敏隆, 第 4 版, 岩波書店, 2002, p1387.
- 5 “DL-メチオニン/L-メチオニン”. 食品添加物公定書解説書. 第 8 版. 谷村顕雄・棚元憲一 監修. 廣川書店, 2007, pD1614-21.
- 6 食品安全委員会：飼料添加物評価書「2-デアミノ-2-ヒドロキシメチオニン亜鉛」（2018 年 2 月）
- 7 ノーバス・インターナショナル：ミントレックス亜鉛 飼料添加物指定審査用資料 抄録（非公表）
- 8 ノーバス・インターナショナル：ミントレックス亜鉛 飼料添加物指定審査用資料 資料 2-5（非公表）
- 9 Beutler KT, Pankewycz O and Brautigan DL: Equivalent uptake of organic and inorganic zinc by monkey kidney fibroblasts, human intestinal epithelial cells, or perfused mouse intestine. Biol Trace Elem Res. 1998; 61: 19-31.
- 10 EFSA (Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed): Scientific Opinion on DL-methionine, DL-methionine sodium salt, the hydroxy analogue of methionine and the calcium salt of methionine hydroxy analogue in all animal species; on the isopropyl ester of methionine hydroxy analogue and DL-methionine technically pure protected with copolymer vinylpyridine/styrene in dairy cows; and on DL-methionine technically pure protected with ethylcellulose in ruminants. The EFSA Journal. 2012; 10 (3): 2623.
- 11 奥村純市：メチオニンヒドロキシアナログの畜産への応用. 畜産の研究 2004; 58(1): 184-194.
- 12 Dibner JL, Vázquez-Añón M, Parker D, Gonzalez-Esquerria R, Yi G and Knight CD: Use of Alimet® feed supplement (2-hydroxy-4-(methylthio)butanoic acid, HMTBA) for broiler production. J Poult Sci 2004; 41: 213-22.
- 13 JECFA: Amino acids and related substances, Safety evaluation of certain food additives, WHO Food Additives Series 54, 2006; p435-81.
- 14 EFSA: Scientific Opinion, Flavouring Group Evaluation 79, (FGE.79). Consideration of amino acids and related substances evaluated by JECFA

- (63rd meeting) structurally related to amino acids from chemical group 34 evaluated by EFSA in FGE.26 Rev1. The EFSA Journal. 2008; 870: 1-46.
- 15 ノーバス・インターナショナル：ミントレックス亜鉛 飼料添加物指定審査用資料 資料 5-2 (非公表)
 - 16 ノーバス・インターナショナル：ミントレックス亜鉛 飼料添加物指定審査用資料 資料 5-3 (非公表)
 - 17 ノーバス・インターナショナル：ミントレックス亜鉛 飼料添加物指定審査用資料 資料 5-4 (非公表)
 - 18 ノーバス・インターナショナル：ミントレックスマンガン 飼料添加物指定審査用資料 抄録 (非公表)
 - 19 ノーバス・インターナショナル：ミントレックスマンガン 飼料添加物指定審査用資料 資料 5-2 (非公表)
 - 20 ノーバス・インターナショナル：ミントレックスマンガン 飼料添加物指定審査用資料 資料 5-3 (非公表)
 - 21 EFSA (Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed(FEESAP)): Safety and efficacy of Mintrex®Cu (Copper chelate of hydroxy analogue of methionine) as feed additive for all species, Scientific Opinion of the Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed. The EFSA Journal. 2008; 693, 1-19.
 - 22 ノーバス・インターナショナル：ミントレックス銅 飼料添加物指定審査用資料 資料 5-2 (非公表)
 - 23 ノーバス・インターナショナル：ミントレックス銅 飼料添加物指定審査用資料 資料 5-3 (非公表)
 - 24 ノーバス・インターナショナル：ミントレックス銅 飼料添加物指定審査用資料 資料 5-4 (非公表)
 - 25 ノーバス・インターナショナル：ミントレックス亜鉛 飼料添加物指定審査用資料 資料 5-1 (非公表)
 - 26 ノーバス・インターナショナル：ミントレックスマンガン 飼料添加物指定審査用資料 資料 5-1 (非公表)
 - 27 ノーバス・インターナショナル：ミントレックス銅 飼料添加物指定審査用資料 抄録 (非公表)
 - 28 ノーバス・インターナショナル：ミントレックス銅 飼料添加物指定審査用資料 資料 5-1 (非公表)
 - 29 あすかアニマルヘルス：大腸菌 KCCM11252P 株を用いて生産される L-メチオニン 飼料添加物指定審査用資料 資料 4-3 (非公表)
 - 30 EFSA: Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in contact with Food (AFC) on a request from the Commission related to Flavouring Group Evaluation 26: Amino acids from chemical group 34. The EFSA Journal. 2006; 373: 1-48.
 - 31 食品安全委員会：平成 20 年度 農薬等のポジティブリスト制度における対象外物質の食品健康影響評価に関する情報収集調査 報告書 (平成 21 年 3 月)
 - 32 Summary of Evaluations performed by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives : DL-METHIONINE, 2004.
 - 33 EFSA (Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed): Safety and efficacy of zinc chelate of methionine sulfate for all animal species. The EFSA Journal. 2017; 15 (6): 4859.